รายงานวิจัย

การพัฒนาการทำฟาร์มเลี้ยงกบนา (Rana tigerina) และการใช้เทคโนโลยีที่เหมาะสมโดยวิธีผสมผสาน

สารบัญ หน้า

กิตติกรรมประกาศ 1

บทที่ 1 บทนำ 2

บทที่ 2 การขยายพันธุ์กบนา: 3
"การใช้สารสังเคราะห์ Gonadotropin releasing hormone (GnRH) analogue ชักนำให้กบนา (Rana tigerina) ผสมพันธุ์ในบ่อเลี้ยง

บทที่ 3 การขยายพันธุ์กบบูลฟร็อก: 14
"การใช้สารสังเคราะห์ Gonadotropin releasing hormone (GnRH) analogue ชักนำให้กบบูลฟร็อก (Rana catesbeiana) ผสมพันธุ์ในบ่อเลี้ยง

บทที่ 4 การกระตุ้นการตกไข่และการพลั่งน้ำเชื้อในกบบูลฟร็อก (Rana catesbeiana) นอกฤดูผสมพันธุ์ด้วย GnRH analogue 22

บทที่ 5 อิทธิพลของอุณหภูมิต่อการเจริญระยะ Metamorphosis ในกบบูลฟร็อก (Rana catesbeiana) ที่เลี้ยงในภาคเหนือของประเทศไทย 33

ภาพประกอบ โครงการเพาะเลี้ยงกบบูลฟร็อก (R. catesbeiana) 43

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

074543

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I157 0550X

รายงานวิจัย

การพัฒนาการทำฟาร์มเพาะเลี้ยงกบนา (Rana tigerina) และการใช้เทคโนโลยีในการเลี้ยงโดยวิธีผสมผสาน

2533

ผุสดี ปริยานนท์

กัมพล อิศรางกูร ณ อยุธยา

นงเยาว์ จันทร์ผ่อง

อิรวรรณ นุตประพันธ์

วิโรจน์ ดาวฤกษ์

พนวสันท์ เอี่ยมจันทร์

รายงานวิจัย

การพัฒนาการทำฟาร์มเลี้ยงกบนา (Rana tigerina) และการใช้เทคโนโลยีที่เหมาะสมโดยวิธีผสมผสาน

สารบัญ หน้า

กิตติกรรมประกาศ 1

บทที่ 1 บทนำ 2

บทที่ 2 การขยายพันธุ์กบนา: 3
"การใช้สารสังเคราะห์ Gonadotropin releasing hormone (GnRH) analogue ชักนำให้กบนา (Rana tigerina) ผสมพันธุ์ในบ่อเลี้ยง – –

บทที่ 3 การขยายพันธุ์กบบูลฟร็อก: – – 14
"การใช้สารสังเคราะห์ Gonadotropin releasing hormone (GnRH) analogue ชักนำให้กบบูลฟร็อก (Rana catesbeiana) ผสมพันธุ์ในบ่อเลี้ยง

บทที่ 4 การกระตุ้นการตกไข่และการหลั่งน้ำเชื้อในกบบูลฟร็อก (Rana catesbeiana) นอกฤดูผสมพันธุ์ด้วย GnRH analogue – – 22

บทที่ 5 อิทธิพลของอุณหภูมิต่อการเจริญระยะ Metamorphosis ในกบบูลฟร็อก (Rana catesbeiana) ที่เลี้ยงในภาคเหนือของประเทศไทย 33

ภาพประกอบ โครงการเพาะเลี้ยงกบบูลฟร็อก (R. catesbeiana) 43

เลขหมู่ ๓๙ กก 15
เลขทะเบียน 00๙๙13
วัน.เดือน.ปี ๒๑ ม.ค. ๓๙

ห้องสมุดกรมวิชาการ ทบวงมหาวิทยาลัย
มอบให้ทดสอบกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
19 / ต.ค. / 36

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้การสนับสนุนการวิจัยด้วยเงินทุนงบประมาณแผ่นดิน

ขอขอบคุณ คณะกรรมการประสานงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ (กปร.)และคณะกรรมการบริหารศูนย์ศึกษาห้วยทรายอันเนื่องมาจากพระราชดำริ อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี ที่ได้ให้การสนับสนุนงบประมาณ จัดทำโครงการงานวิจัยการขยายพันธุ์และเพาะเลี้ยงกบ อ.ชะอำ จ. เพชรบุรี

ขอขอบคุณ ผบ. นพค.32 กรบ.กลาง จ.เชียงใหม่ และผู้ร่วมงานทุกท่านที่ได้ให้การสนับสนุนในการศึกษาทดลอง และเก็บข้อมูลในการเพาะเลี้ยงกบบูลฟร็อก

นอกจากนี้ ขอขอบคุณ คณบดี รองคณบดีฝ่ายวิจัย หัวหน้าภาควิชาชีววิทยา ตลอดจนคณาจารย์ เจ้าหน้าที่ ทุกท่านที่ได้ให้ความร่วมมือในการดำเนินการโครงการวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

บทที่ 1

บทนำ

เนื่องจากความต้องการของผู้บริโภคเนื้อกบในตลาดมีอยู่สูงทั้งในประเทศและในตลาดต่างประเทศ ซึ่งได้แก่ สหรัฐอเมริกา ฝรั่งเศส เบลเยี่ยม เนเธอร์แลนด์ เยอรมัน ญี่ปุ่น และสหรัฐอาหรับเอมิเรตกาบอง เป็นต้น อาชีพการทำฟาร์มเลี้ยงกบจึงกำลังเป็นที่นิยมกันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน การทำฟาร์มเลี้ยงกบแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ

1. การเลี้ยงกบพันธุ์พื้นเมืองหรือที่เรียกกันทั่วไปว่า กบนา มีอยู่ 2 ชนิด มีชื่อวิทยาศาสตร์เรียกว่า Rana tigerina และ R. rugulosa

2. การเลี้ยงกบพันธุ์ต่างประเทศ หรือที่เรียกกันทั่วไปว่า **กบบลูฟร็อก** มีชื่อวิทยาศาสตร์เรียกว่า Rana catesbeiana (กบชนิดนี้ได้ถูกนำเข้ามาทดลองเลี้ยงในประเทศไทยตั้งแต่ปี 2519)

อย่างไรก็ตามอาชีพการทำฟาร์มเพาะเลี้ยงกบ เพื่อเป็นผลผลิตในด้านอุตสาหกรรม-เกษตร ซึ่งนับว่าเป็นอาชีพใหม่นั้นจำเป็นต้องมีการศึกษาทดลองและพัฒนาวิธีการทำฟาร์มให้มีประสิทธิภาพ มีผลผลิตที่ดีและเหมาะสมกับความต้องการของตลาดด้วย

ในปัจจุบัน การศึกษาทดลองเพื่อพัฒนาในด้านวิทยาศาสตร์และธุรกิจต่างๆได้มีการนำเอาความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแขนงใหม่ๆเข้ามาใช้ การทำฟาร์มเพาะเลี้ยงกบก็เช่นเดียวกันได้มีการนำเอาความรู้ทางเทคโนโลยีชีวภาพเข้ามาช่วยในการพัฒนาวิธีการทำฟาร์ม ซึ่งได้แก่ วิธีการ ขยายพันธุ์ การคัดเลือก และการปรับปรุงพันธุ์ รวมทั้งการจัดการฟาร์มที่เหมาะสม ซึ่งสิ่งเหล่านี้เป็นปัจจัยเบื้องต้นที่เป็นปัญหาและมีผลต่อการทำฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์ชนิดต่างๆ ให้ประสบผลสำเร็จ มีประสิทธิภาพและได้ผลผลิตสูง ดังนั้นการศึกษาทดลองเรื่อง "การพัฒนาการทำฟาร์มเพาะเลี้ยงกบนา Rana tigerina และการใช้เทคโนโลยีในการเลี้ยงโดยวิธีผสมผสาน" จึงมีเป้าหมายประกอบด้วย

1. การขยายพันธุ์กบนา : "การใช้สารสังเคราะห์ GnRH analogue กระตุ้นให้กบนา (Rana tigerina) ผสมพันธุ์ในบ่อเลี้ยง
2. การขยายพันธุ์กบบูลฟร็อก: "การใช้สารสังเคราะห์ GnRH analogue กระตุ้นให้กบบูลฟร็อก (Rana catesbeiana) ผสมพันธุ์ในบ่อเลี้ยง
3. การกระตุ้นการตกไข่และการหลั่งน้ำเชื้อในกบบลูฟร็อก (Rana catesbeiana) (ด้วย GnRH analogue นอกฤดูกาลผสมพันธุ์)
4. ผลของอุณหภูมิที่มีต่ออัตราการเจริญระยะ Metamorphosis ของลูกอ๊อดในกบบูลฟร็อก (นอกฤดูกาล)

บทที่ 2

การใช้สารสังเคราะห์ GnRH analogue ชักนำให้กบนา (Rana tigerina) ผสมพันธุ์ในบ่อเลี้ยง

Use of GnRH analogue in Induced Reproduction of Frog, (Rana tigerina).

บทคัดย่อ

จากการศึกษาทดลองโดยการใช้สาร GnRH analogue ฉีดที่ใต้ผิวหนังให้กบนาพ่อแม่พันธุ์ในปริมาณ 5-40 ไมโครกรัม ต่อ 1 ก.ก. น้ำหนักตัว เพื่อกระตุ้นให้เกิดการตกไข่ หลั่งน้ำเชื้อ และจับคู่ผสมพันธุ์ในบ่อเลี้ยง พบว่า

การฉีด GnRH analogue จำนวน 2 เข็ม ขนาด 5 และ 10 ไมโครกรัม 10 และ 20 ไมโครกรัม 20 และ 40 ไมโครกรัม ในระยะเวลาห่างกัน 6 ชม. สามารถกระตุ้นให้ตัวเมียตกไข่ได้ 100 เปอร์เซ็นต์

ส่วนการฉีด GnRH analogue จำนวน 1 เข็ม ในปริมาณ 10, 20 และ 40 ไมโครกรัม สามารถกระตุ้นให้กบพ่อพันธุ์หลั่งน้ำเชื้ออสุจิได้ภายใน 60 นาที

สำหรับการทดลองใช้ GnRH analogue ในปริมาณต่างๆกัน เพื่อฉีดกระตุ้นให้กบจับคู่ผสมพันธุ์ในบ่อเลี้ยง พบว่าการฉีด GnRH analogue ในปริมาณสูง คือ 20 และ 40 ไมโครกรัมให้ตัวเมีย และ 40ไมโครกรัมให้ตัวผู้ จะให้ผลผลิตสูงสุด อย่างไรก็ตาม จากการนับจำนวนลูกอ๊อดที่ได้ในบ่อผสมแต่ละบ่อ ปรากฏว่าให้ผลผลิตไม่สม่ำเสมอ อยู่ในระหว่าง 120-2,598 ตัว

จากผลการทดลองนี้ พอสรุปได้ว่าสาร GnRH analogue สามารถใช้ฉีดกระตุ้นเพื่อชักนำให้กบนา (Rana tigerina) ผสมพันธุ์ในบ่อเลี้ยงได้ แต่เพื่อให้วิธีการผสมพันธุ์กบในบ่อเลี้ยงได้ผลผลิตดีและมีประสิทธิภาพมากกว่านี้ ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาทดลองปรับวิธีการ ให้เหมาะสมมากยิ่งขึ้น

คำนำ

ทศวรรษที่แล้วมา ได้มีผู้ทำการศึกษาทดลองใช้ฮอร์โมน หรือสารเคมีบางชนิด เพื่อช่วยกระตุ้น หรือชักนำให้กบหลายชนิดมีการสืบพันธุ์ เช่น การนำเอาต่อมใต้สมองของกบบูลฟร็อก (Rana catesbeiana) ฉีดเข้าไปในช่องท้องของกบเพศเมีย ชนิด R. lessonae, R. ribicunda, R. esculenta และ R. nirana สามารถชักนำให้เกิดการตกไข่ได้ (1,2) ในกบชนิด R. pipien เมื่อฉีดฮอร์โมน HCG และ progesterone เข้าไปในตัวเมีย สามารถชักนำให้กบเพศเมียตกไข่ได้เช่นเดียวกัน (3) ในทำนองเดียวกันกับการทดลองในกบเพศเมีย ได้มีผู้ทดลองฉีดฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองของกบชนิด R. pipien ให้กับกบบูลฟร็อกเพศผู้ สามารถชักนำให้กบเพศผู้หลั่งน้ำเชื้ออสุจิได้เช่นกัน (4)

นอกจากฮอร์โมนดังกล่าวแล้ว ในปัจจุบันได้มีผู้ค้นพบว่า ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมอง gonadotropin releasing hormone (LHRH) หรือสารสังเคราะห์ GnRH analogue เมื่อฉีดเข้าไปในกบชนิดต่างๆ ก็สามารถกระตุ้น หรือเร่งการสืบพันธุ์ให้เกิดเร็วขึ้น ตัวอย่างเช่น การฉีดสารสังเคราะห์ GnRH analogues วันละเข็ม เข้าไปในกบบูลฟร็อก ช่วงระยะเวลา 3-4 วัน อย่างต่อเนื่อง สามารถกระตุ้นให้กบตัวเมียเกิดการตกไข่ได้ (5) ส่วนในตัวผู้เมื่อฉีด GnRH analogue เพียงเข็มเดียว ก็สามารถกระตุ้นให้กบบูลฟร็อกเพศผู้สามารถหลั่งน้ำเชื้ออสุจิได้เช่นกัน (6,7)

อย่างไรก็ตาม ในกบนาชนิด R. tigerina การศึกษาโดยการใช้ฮอร์โมนหรือสารสังเคราะห์ฉีดกระตุ้นเพื่อชักนำเพื่อเร่งให้กบผสมพันธุ์ยังมีการศึกษากันน้อยมาก ตัวอย่างเช่น การทดลองใช้ฮอร์โมน HCG ฉีดกระตุ้นเข้าไปเพื่อเร่งการเจริญของรังไข่ (8) และอัณฑะ (9) การใช้ฮอร์โมนและสารเคมีชักนำให้กบนาผสมพันธุ์ (10) ซึ่งจากการทดลองเบื้องต้นนั้นพบว่า การใช้ GnRH analogues ฉีดเข้าไปในกบนา สามารถชักนำให้กบนาจับคู่ผสมพันธุ์ เกิดการตกไข่ และปฏิสนธิเกิดขึ้นในบ่อเลี้ยงได้

ดังนั้นเพื่อเป็นการพัฒนาและค้นหาวิธีการชักนำให้กบนาผสมพันธุ์ในบ่อเลี้ยงให้ได้ผลดีและมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น การทดลองในนี้ จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะทำการศึกษาหาปริมาณที่เหมาะสมของสารสังเคราะห์ GnRH analogue ที่ฉีดกระตุ้นเข้าไปในกบนาในปริมาณต่างๆกันเพื่อชักนำให้จับคู่ผสมพันธุ์ในช่วงฤดูกาลสืบพันธุ์ ทั้งนี้เพื่อจะได้นำผลที่ได้ไปใช้ในการขยายพันธุ์กบนาให้ได้ผลผลิตมากที่สุด และมีประสิทธิภาพมากที่สุดในการลดต้นทุนของการผลิต

วิธีดำเนินการทดลอง

จากพ่อแม่พันธุ์กบนา (Rana tigerina) ที่เลี้ยงไว้ในบ่อดินกึ่งธรรมชาติในบริเวณสถานีวิจัยกบ ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยทรายอันเนื่องมาจากพระราชดำริ อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี กบพ่อแม่พันธุ์ที่นำมาใช้เป็นกบที่เลี้ยงไว้มีอายุครบ 1 ปี เพื่อจะทำการทดลองในช่วงฤดูกาลสืบพันธุ์ (พฤษภาคม-กันยายน) อาหารที่ใช้เลี้ยงเป็นปลาสดสับให้วันละ1 ครั้ง เวลาเย็นตลอดปี

วิธีการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ที่มีลักษณะเหมาะสมและพร้อมที่จะผสมพันธุ์ ทำโดยสังเกตุจากลักษณะภายนอก ในตัวผู้จะสังเกตุเห็นถุงเสียง (vocal sac) ชัดเจนที่ใต้คางทั้ง 2 ข้าง ส่วนตัวเมียจะมีลักษณะอ้วน ท้องอูมทั้ง 2 ข้าง และเมื่อสัมผัสที่บริเวณด้านข้างของลำตัว จะพบว่ามีปุ่มขึ้นเรียงเป็นแถว มีลักษณะสากมือ นอกจากนี้เมื่อพลิกดูทางด้านท้องจะสังเกตุเห็นเส้นเลือดเป็นจำนวนมากที่ใต้บริเวณผิวหนัง

จากนั้นนำกบที่ทำการคัดเลือกแล้ว มาวัดขนาด ชั่งน้ำหนัก เพื่อจะทำการฉีดกระตุ้นด้วยสารเคมี

การทดลองที่ 1. การกระตุ้นการตกไข่

จากกบทดลองเพศเมีย จำนวน 40 ตัว โตเต็มวัย (อายุครบ 1 ปี) มีน้ำหนักอยู่ระหว่าง 100-230 กรัม และมีความยาวของลำตัวอยู่ระหว่าง 87.2-112.0 มิลลิเมตร นำมาแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว แล้วฉีดด้วยสารเคมีต่างๆเข้าที่บริเวณช่องท้องตามวิธีของ Rugh (1962) ในปริมาณดังต่อไปนี้

(การทดลองนี้ดำเนินการในห้องปฏิบัติการวิจัยกบ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

I กลุ่มควบคุม (10 ตัว) ฉีดด้วยน้ำเกลือ (0.75% NaCl) ปริมาณ 1 ซีซี

II กลุ่มทดลองที่ 1 (10 ตัว) ฉีดด้วย GnRH analogue จำนวน 2 เข็ม ในปริมาณ 5 และ 10 ไมโครกรัม ต่อ 1 กก. น้ำหนักตัว ในระยะเวลาห่างกัน 6 ชั่วโมง

III กลุ่มทดลองที่ 2 (10 ตัว) ฉีดด้วย GnRH analogue จำนวน 2 เข็ม ในปริมาณ 10 และ 20 ไมโครกรัม ต่อ 1 กก. น้ำหนักตัว (ห่างกัน 6 ชั่วโมง)

IV กลุ่มทดลองที่ 3 (10 ตัว) ฉีดด้วย GnRH analogue จำนวน 2 เข็ม ในปริมาณ 20 และ 40 ไมโครกรัม ต่อ 1 กก. น้ำหนักตัว (ห่างกัน 6 ชม.)

การตรวจสอบการตกไข่ด้วยการรีดไข่ตามวิธีของ Rugh (1962) อย่างไรก็ตามก่อนการฉีดสารเคมีของเข็มที่สองทุกครั้ง จะทำการตรวจสอบการตกไข่ ก่อนเช่นกัน

<u>การทดลองที่ 2</u> การกระตุ้นการหลั่งน้ำเชื้ออสุจิ

ทำการคัดเลือกกบเพศผู้อายุครบ 1 ปี มีน้ำหนักอยู่ระหว่าง 77-97 กรัม และมีความยาวของลำตัวอยู่ระหว่าง 85-93 มิลลิเมตร นำมาแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว นำมาฉีดสารเคมีต่างๆเข้าที่บริเวณช่องท้องตามวิธีของ Rugh (1962) ในปริมาณดังต่อไปนี้

(การทดลองนี้ทำในห้องปฏิบัติการวิจัยกบ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาฯ)

I <u>กลุ่มควบคุม</u> (10 ตัว) ฉีดด้วยน้ำเกลือ (0.75% NaCl) ปริมาณ 1 ซีซี

II <u>กลุ่มทดลองที่ 1</u> (10 ตัว) ฉีดด้วย GnRH analogue จำนวน 1 เข็ม ปริมาณ 10 ไมโครกรัม ต่อ 1 นน.ตัว 1 กิโลกรัม

III <u>กลุ่มทดลองที่ 2</u> (10 ตัว) ฉีดด้วย GnRH analogue จำนวน 1 เข็ม ปริมาณ 20 ไมโครกรัม ต่อ นน.ตัว 1 กิโลกรัม

IV <u>กลุ่มทดลองที่ 3</u> (10 ตัว) ฉีดด้วย GnRH analogue จำนวน 1 เข็ม ปริมาณ 40 ไมโครกรัม ต่อ นน.ตัว 1 กิโลกรัม

จากนั้นตรวจสอบการหลั่งน้ำเชื้อ ด้วยวิธีการรีดน้ำเชื้อภายหลังการฉีด ในช่วงเวลา 0, 20, 30, 45 และ 60 นาทีตามลำดับ แล้วนำน้ำเชื้อที่รีดไปตรวจดูจำนวนเชื้ออสุจิด้วยกล้องจุลทรรศน์

<u>การทดลองที่ 3</u> การชักนำกบนาให้ผสมพันธุ์ในบ่อขยายพันธุ์

คัดเลือกกบพ่อแม่พันธุ์อายุ 1 ปี จำนวน 40 คู่ นำมาแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 10 คู่ ฉีดด้วยสารเคมีชนิดต่าง ๆ ตามวิธีที่กล่าวมาแล้วในการทดลองที่ 1 และ 2 ในปริมาณดังต่อไปนี้

I <u>กลุ่มควบคุม</u> (10 คู่) ฉีดด้วยน้ำเกลือ (0.75% NaCl) 1 ซีซี

II <u>กลุ่มทดลองที่ 1</u> (10 คู่) ฉีดตัวเมียด้วย GnRH analogue จำนวน 2 เข็ม ปริมาณ 5 และ 10 ไมโครกรัม ต่อ นน.ตัว 1 กิโลกรัม

III <u>กลุ่มทดลองที่ 2</u> (10 คู่) ฉีดตัวเมียด้วย GnRH analogue จำนวน 2 เข็ม ปริมาณ 20 และไมโครกรัม ต่อ นน.ตัว 1 กิโลกรัม

IV <u>กลุ่มทดลองที่ 3</u> (10 ตัว)ฉีดด้วย GnRH analogue จำนวน 2 เข็ม ปริมาณ 20 และ 40 ไมโครกรัม ต่อ นน.ตัว 1 กิโลกรัม (ห่างกัน 6 ช.ม.)

ในเวลาเดียวกันการฉีดเข็มที่ 2 ให้กบนาตัวเมีย ทำการฉีดกบตัวผู้ด้วย GnRH analogues จำนวน 1 เข็ม ให้กับกบตัวผู้ในกลุ่มทดลองที่ 1, 2 และ 3 ในปริมาณ 10, 20 และ 40 ไมโครกรัม ต่อ น.น. ตัว 1 กิโลกรัมตามลำดับ

จากนั้นปล่อยกบแต่ละคู่ลงในบ่อขยายพันธุ์ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เมตร มีน้ำลึก 10-15 เซนติเมตร ติดตามผลการวางไข่ในระยะเวลา 8-18 ช.ม. ผลการปฏิสนธิระยะเวลา 24-48 ช.ม. และตรวจนับจำนวนของลูกอ๊อดที่ได้ในแต่ละบ่อเมื่ออายุได้ 5-7 วัน

<u>ผลการทดลอง</u>

<u>ผลของ GnRH analogue ต่อการตกไข่</u>

จากผลในตารางที่ 1 ได้แสดงให้เห็นว่าในกลุ่มควบคุม กบตัวเมียที่ฉีดด้วยน้ำเกลือ (0.75% NaCl) ทั้ง 10 ตัว ไม่มีการตกไข่ ส่วนในกลุ่มทดลอง 1,2 และ 3 ที่ฉีดด้วย GnRH analogue ในปริมาณ 5 และ 10 ไมโครกรัม 10 และ 20 ไมโครกรัม 20 และ 40 ไมโครกรัม ต่อ น.น. ตัว 1 กิโลกรัม พบว่าสามารถกระตุ้นให้กบตัวเมียตกไข่ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อฉีดด้วย GnRH analogue เข็มแรกในปริมาณ 5 และ 10 ไมโครกรัมสามารถกระตุ้นให้กบนาตัวเมียตกไข่ได้ 10 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมื่อฉีดเข็มแรกปริมาณ20 ไมโครกรัม สามารถกระตุ้นให้ตัวเมียตกไข่ได้40เปอร์เซ็นต์

<u>ผลของ GnRH analogue ต่อการหลั่งน้ำเชื้ออสุจิ</u>

ในการทดลองพบว่าเมื่อฉีดสารเคมี GnRH analogue เพียงเข็มเดียวในปริมาณ 10,20,และ40 ไมโครกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถกระตุ้นให้กบตัวผู้หลั่งน้ำเชื้ออสุจิได้ 100 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 1 ชม. หรือ 60 นาที ส่วนกลุ่มควบคุมที่ฉีดด้วยน้ำเกลือ 0.75% NaCl) พบว่าไม่มีการหลั่งน้ำเชื้ออสุจิ

<u>ผลของ GnRH analogue ต่อการชักนำให้กบนาผสมพันธุ์</u>

ผลการทดลองพบว่ากลุ่มควบคุมจำนวน 10 คู่ ไม่ปรากฏว่ามีการวางไข่และปฏิสนธิเกิดได้ภายในเวลา 18-24 ช.ม. (ตารางที่ 3)

ส่วนกลุ่มทดลองที่ 1 (ฉีดตัวเมียด้วย 5 และ 10 ไมโครกรัม และฉีดตัวผู้ด้วย 10 ไมโครกรัม) พบว่ามีกบตัวเมีย การวางไข่ 60% และมีการปฏิสนธิเพียง 30 % ส่วนจำนวนลูกอ๊อดที่ได้มีปริมาณอยู่ระหว่าง 504 - 3824 ตัว เฉลี่ย 575.3 $\pm$ 1377.9 (ตารางที่ 4)

กลุ่มทดลองที่ 2 (ฉีดตัวเมียด้วย 10 และ 20 ไมโครกรัม และตัวผู้ 20 ไมโครกรัม) พบว่ากบตัวเมียวางไข่ 90% และมีการปฏิสนธิ 50% จำนวนลูกอ๊อดที่ได้มีปริมาณอยู่ระหว่าง 370 - 1299 ตัว เฉลี่ย 485.1$\pm$511.0 (ตารางที่ 5)

กลุ่มทดลองที่ 3 (ฉีดตัวเมีย 20 และ 40 ไมโครกรัม ตัวผู้ 40 ไมโครกรัม) พบว่ากบตัวเมียวางไข่ 100% มีการปฏิสนธิ 100% จำนวนลูกอ๊อดที่ได้มีปริมาณอยู่ระหว่าง 120-2598 ตัว เฉลี่ย 847.7$\pm$773.7 (ตารางที่ 6)

Table 1. Induction of ovulation in frog, Rana tigerina injected with different dosages of GnRH analogue

Treatments	n. (♀)	BW ($\bar{X}$ ± SD)	BL ($\bar{X}$ ± SD)	% of animals attaining each dose	
				dose 1	dose 2
Control (0.75% NaCl)	10	130.5±30.9	97.1±7.4	0	0
5 and 10 µg/kg BW.	10	156.0±12.7	100.6±4.7	10	100
10 and 20 µg/kg BW.	10	165.0±30.9	104.1±6.3	40	100
20 and 40 µg/kg BW.	10	157.5±30.9	101.8±5.5	40	100

Table 2. Induction of spermiation in frog, Rana tigerina, injected with different dosages of GnRH analogue

Treatments	n. (♂)	BW ($\bar{X}$ ± SD)	BL ($\bar{X}$ ± SD)	% of animals attaining each rank				
				0	20	30	45	60
Control (0.75% NaCl)	10	85.0±5.47	90.76±2.89	0	0	0	0	0
10 µg/kg BW.	10	97.8±13.38	93.0±6.35	0	0	0	0	100
20 µg/kg BW.	10	77.0±7.58	88.02±2.91	0	0	0	0	100
40 µg/kg BW.	10	82.5±14.2	88.9±6.9	0	0	0	0	100

Table 3. Tadpoles obtained from induced reproduction.

Treatment	N.	♂		♀		Spawning	No. of tadpoles (Age 5-7 days)
		BW (mg)	BL (m.m.)	BW (mg)	BL (m.m.)		
	1	85.0	87.4	150	97.2	—	—
	2	65.0	83.1	105	85.5	—	—
0.75% NaCl	3	110.0	90.0	121	89.0	—	—
	4	75.0	90.9	110	94.3	—	—
	5	65.0	76.0	120	101.4	—	—
0.75% NaCl	6	75.0	93.3	145	102.6	—	—
	7	100.0	83.0	160	102.0	—	—
(Control)	8	80.0	82.4	130	101.5	—	—
	9	125.0	92.0	155	103.4	—	—
	10	105.0	100.2	190	104.4	—	—
	$\bar{X}\pm SD$	88.5±	87.86±	138.6±	98.12±	—	—
		20.42	6.5	24.9	6.2	—	—

Table 4. Tadpoles obtained from induced reproduction.

Treatment	N.	♂		♀		Spawning	No. of tadpoles (Age 5-7 days
		BW (mg)	BL (m.m.)	BW (mg)	BL (m.m.)		
	1	135.0	97.0	120.0	98.3	—	—
	2	100.0	93.5	205.0	110.3	✓	—
5,10 µg/	3	120.0	93.3	135.0	96.4	—	—
kg BW	4	90.0	91.6	170.0	99.5	✓	—
	5	110.0	87.5	200.0	95.8	✓	504
	6	100.0	87.9	160.0	100.9	✓	3,824
(1 dose)	7	100.0	93.3	120.0	97.8		no
10 µg/	8	80.0	95.6	150.0	102.2	✓	1,425
kg BW	9	75.0	90.6	155.0	107.1	—	—
	10	110.0	87.6	155.0	98.1	✓	—
	$\bar{X}\pm SD$	1020±181	91.79±3.4	1570±291	10064±4.7	—	575.3 ± 1377.9

Table 5. Tadpoles obtained from induced reproduction.

Treatment	N.	♂		♀		Spawning	No. of tadpoles (Age 5-7 days)
		BW (mg)	BL (m.m.)	BW (mg)	BL (m.m.)		
	1	115.0	97.8	230.0	112.0	–	–
	2	100.0	95.4	190.0	101.8	✓	519
10,20 µg/	3	104.0	99.3	180.0	101.2	✓	1,127
kg BW	4	90.0	87.1	170.0	102.8	✓	370
	5	80.0	85.4	145.0	98.6	✓	–
	6	80.0	83.1	140.0	98.4	✓	–
(1 dose)	7	90.0	91.7	180.0	108.5	✓	1,299
20 µg/	8	90.0	90.8	130.0	104.4	✓	1,051
kg BW	9	85.0	90.5	140.0	116.4	✓	–
	10	135.0	91.7	145.0	97.2	✓	–
	$\bar{X}\pm SD$	96.6±	91.28±	165±	104.05±		485.1 ±
		16.4	4.9	29.3	6.02	–	511.0

Table 6. Tadpoles obtained from induced reproduction.

Treatment	N.	♂		♀		Spawning	No. of tadpoles (Age 5-7 days)
		BW (mg)	BL (m.m.)	BW (mg)	BL (m.m.)		
	1	85.0	88.7	185.0	99.4	✓	200
	2	70.0	83.2	170.0	105.5	✓	2,598
20,40 µg/	3	70.0	84.8	210.0	107.8	✓	340
kg BW	4	75.0	81.4	165.0	99.5	✓	400
	5	85.0	87.0	155.0	94.4	✓	740
	6	65.0	81.1	115.0	96.8	✓	1,827
(1 dose)	7	85.0	92.2	135.0	97.7	✓	1,320
4 ug/	8	90.0	98.0	130.0	108.9	✓	340
kg BW	9	85.0	101.6	125.0	101.4	✓	120
	10	115.0	91.0	185.0	108.4	✓	589
	$\bar{X}\pm SD$	82.5±	88.9±	157.5±	101.88±	–	847.7 ±
		13.5	6.5	29.3	5.1		773.7

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองนี้ พอที่จะสรุปได้ว่า สารสังเคราะห์ GnRH analogue เมื่อฉีดให้กบนา (Rana tigerina) สามารถชักนำให้กบนาเกิดการตกไข่และหลั่งน้ำเชื้อเช่นเดียวกันกับกบบูลฟร็อก (5,10) นอกจากนี้สารชนิดนี้ยังสามารถใช้ฉีดกระตุ้นให้กบนาจับคู่ผสมพันธุ์กันในบ่อขยายพันธุ์ได้ โดยไม่ต้องอาศัยการกระตุ้นจากสภาพแวดล้อมภายนอกอีกด้วย และจากผลการทดลองในขณะนี้ การใช้สารสังเคราะห์ GnRH analogue ในประมาณที่สูง (20 และ 40 ไมโครกรัม ในตัวเมีย และ 40 ไมโครกรัม ในตัวผู้) ให้ผลผลิตสูงกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ GnRH analogue ที่ฉีดเข้าไปในปริมาณที่ต่ำกว่า (ตารางที่ 4,5 และ 6) และจากผลการทดลองในตารางที่ 4,5 และ 6 เช่นเดียวกันยังพบว่า กบนาตัวเมียขนาดใหญ่ที่ใช้ในการทดลอง(ซึ่งคาดว่าน่าจะมีไข่แก่อยู่ในถุงฟักไข่เป็นจำนวนมาก) ก็ไม่ได้ให้ผลผลิตสูงไปกว่ากบนาที่มีขนาดปานกลางและมีขนาดเล็ก

อย่างไรก็ดี การทดลองในครั้งนี้นับว่าเป็นครั้งแรก ที่ใช้ GnRH analogue ระดับต่างๆฉีดกระตุ้นในกบนาทั้งในเพศผู้และเพศเมียเพื่อให้จับคู่ผสมพันธุ์ในบ่อเลี้ยง

ดังนั้นการศึกษาระยะเวลาในการฉีดให้เหมาะสมรวมทั้งการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณของ GnRH analogue ในระดับต่างๆให้พอเหมาะ เพื่อกระตุ้นให้กบตัวผู้และตัวเมียมีการหลั่งน้ำเชื้ออสุจิและการตกไข่ในระยะให้พอดีจำเป็นจะต้องมีการศึกษารายละเอียดในขั้นต่อไป

นอกจากนี้ควรทำการศึกษาในเรื่องอื่นๆเช่น การศึกษาปริมาณของ GnRH analogue ฉีดเข้าไปเพื่อกระตุ้นให้เกิดการหลั่งของ ฮอร์โมน Gonadotropin จากต่อมใต้สมองของกบชนิดนี้ได้มากน้อยแค่ไหน หรือใช้ระยะเวลาในพักตัวนานเท่าใด ทั้งนี้เพราะฮอร์โมนชนิดนี้เป็นฮอร์โมนตัวสำคัญที่ทำให้เกิดการตกไข่และการหลั่งน้ำเชื้ออสุจิในกบแต่ละชนิดด้วย

เอกสารอ้างอิง

1. Kawamura, T. and M. Nishioka 1986. Hybridization experiments among Rana lessonae, R. ribibunda and R. esculenta,with special reference to hybridogenesis. Sci. Rep. Lab. Amphibian Biol. Hiroshima Univ., 8: 117-271.

2. Nishioka, M., H. Ueda and M. Sumida 1987. Intraspecific differentiation of Rana narina elucidated by crossing experiments and electrophoretic analyses of enzymes and blood protein. Sci. Rep. Lab. Amphibian Biol.,Hiroshima Univ. 9: 261-303.

3. Wright,P.A. and A.R. Flathers 1961. Facilitation of pituitary induced frog ovulation by progesterone in early fall. Proc. Soc. Exp. Bio. Med. 106: 346-349.

4. Easley, K.A., D.D. Culley, N.D. Horseman N.D.and J.E. Penkala 1979. Environmental influenced on hormone induced spermiation of the bullfrog. Rana catesbeiana. Exp. Zool. 207: 407-416.

5. McCreery, B.R., P. Licht, R. Barnes, J.E. Rivies and W.W. Vale 1982. Action of agonistic and antagonistic analogs of gonadotropin releasing hormone (Gn-RH) in the bullfrog Rana catesbeiana, General and Comparative Endocrinology. 46: 511-520.

6. Daniels, E., and P. Licht 1980. Effects of gonadotropin (FSH and LH) in the bullfrog Rana catesbeiana. Gen. Comp. Endocrinol. 32: 146-157.

7. Pramoda, S. and S.K. Saidapur 1982. Comparative effects of homoplastic pituitary homogenate, HCG and PMSG on follicular development in the frog, Rana tigerina during post-breeding regression phase. Ind. J. Exp. Biol. 20 : 808-810.

8. ผุสดี ปริยานนท์ ธีรวรรณ นุตประพันธ์ และนงเยาว์ จันทร์ผ่อง 2533. การศึกษาเบื้องต้นการใช้ฮอร์โมนชักนำการผสมพันธุ์กบนา (Rana tigerina) และการเจริญวัยระยะต่างๆ ผลงานวิจัยการประชุมวิชาการสาขาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 28: 149-154.

9. Rugh, R., 1962. Experimental Embryology. Burgess Publishing Company. Minnesota. pp. 91-103.

10. McCreery, B.R. and P. Licht 1933. Induced ovulation and changes in pituitary responsiveness to continuous infusion of gonadotropin releasing hormone during the ovarian cycle in the bullfrog, Rana catesbeiana. Biol. Reprod. 29 : 863-871.

บทที่ 3

การใช้สารสังเคราะห์ GnRH analogue ชักนำให้กบบูลฟร็อก (Rana catesbeiana) ผสมพันธุ์ในบ่อเลี้ยง

Use of GnRH analogue in Induced Reproduction of Frog, Rana catesbeiana, in ponds.

บทคัดย่อ

การใช้สาร GnRH analogue ฉีดกระตุ้นในกบบูลฟร็อก เพื่อชักนำให้กบจับคู่ผสมพันธุ์ในบ่อเลี้ยงในช่วงปลายฤดูสืบพันธุ์ (กพ.- สค.) พบว่าการใช้ GnRH analogue ฉีดให้กับกบเพศเมียจำนวน 2 เข็ม ในปริมาณ 2 และ 3 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1กิโลกรัม สามารถชักนำให้ตัวเมียตกไข่ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนผลการปฏิสนธิเกิดขึ้นได้ถึง 92 % ทั้งนี้โดยไม่ต้องฉีดกระตุ้นให้กับตัวผู้ ในทำนองเดียวกันกับการฉีด GnRH analogue ให้กบเพศเมียจำนวน 3 เข็ม ในปริมาณ 2,3และ 3 ไมโครกรัม ตามลำดับพบว่าสามารถชักนำให้กบบูลฟร็อกตัวเมียตกไข่ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เช่นกัน ส่วนผลการปฏิสนธิที่เกิดขึ้นก็สามารถให้ผลได้ถึง 93 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้โดยไม่ต้องกระตุ้นในกบตัวผู้เช่นกัน

บทนำ

กบบูลฟร็อก (Rana catesbiena) เป็นกบพันธุ์ต่างประเทศที่ถูกนำเข้ามาเพาะเลี้ยงในฟาร์มเป็นครั้งแรกในปีพ.ศ. 2529 (1) ที่จังหวัดเชียงใหม่ เป็นกบที่มีขนาดใหญ่เชื่อง และเลี้ยงง่ายมีช่วงระยะเวลาการผสมพันธุ์ตามธรรมชาติในประเทศไทย อยู่ในระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนสิงหาคม (2) ลักษณะทั่วไปของกบบูลฟร็อก ตัวผู้มีขนาดโตกว่าตัวเมีย ตัวเต็มวัยมีน้ำหนักอยู่ระหว่าง250-450 กรัม เมื่ออายุ 12-18 เดือนจากการดูลักษณะภายนอก ตัวผู้จะมีสีเขียวอมเหลืองที่ใต้คาง วงแก้วหูใหญ่ ส่วนตัวเมียจะมีวงแก้วหูเล็ก

อย่างไรก็ตาม การทำฟาร์มเพาะเลี้ยงกบบูลฟร็อกในประเทศไทยในปัจจุบัน ยังไม่ขยายตัวได้ไกลไปเท่าที่ควรทั้งนี้เนื่องจากเกษตรกรยังขาดเทคนิคในด้านการเพาะเลี้ยง การขยายพันธุ์ที่นอกเหนือไปจากวิธีในธรรมชาติ รวมทั้งปัจจัยอื่นๆในด้านการจัดการฟาร์มเพื่อให้ได้ผลผลิตที่ดีและเหมาะสมกับความต้องการของตลาด ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เบื้องต้นเพื่อศึกษาทดลอง หาวิธีการขยายพันธุ์กบบูลฟร็อกในบ่อเลี้ยง ด้วยวิธีที่นอกเหนือไปจากการผสมด้วยวิธีธรรมชาติ ทั้งนี้โดยนำความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีชีวภาพเข้ามาช่วย ซึ่งได้แก่ การใช้ฮอร์โมน หรือสารสังเคราะห์ GnRH ชนิดต่างๆ ช่วยในการขยายพันธุ์โดยฉีดกระตุ้นให้กบจับคู่ผสมพันธุ์ในบ่อเลี้ยง

ได้มีผู้ทำการทดลองโดยการใช้ฮอร์โมน สารสังเคราะห์ GnRH และGnRH analogues หลายชนิด ฉีดกระตุ้นเข้าไปในกบชนิดต่างๆ เพื่อกระตุ้นหรือทำการปรับสภาพทางสรีรการสืบพันธุ์มาแล้ว ตัวอย่างเช่น การใช้ต่อมใต้สมองของกบชนิดต่างๆ ฮอร์โมน HCG,LH,FSH และ LH/FSH ฉีดกระตุ้นในกบบูลฟร็อกเพื่อให้ตัวผู้มีการหลั่งน้ำเชื้ออสุจิ (3) การใช้สารสังเคราะห์ GnRH ฉีดกระตุ้นเข้าไปในกบบูลฟร็อกสามารถชักนำให้เกิดการตกไข่ และการหลั่งน้ำเชื้ออสุจิ (4)การใช้ต่อมใต้สมองของกบบูลฟร็อกฉีดร่วมกับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสามารถชักนำให้กบบูลฟร็อกเกิดการตกไข่ได้เช่นกัน (5) นอกจากการใช้ฮอร์โมนและสารเคมีดังกล่าวแล้ว ยังมีผู้พบว่าสังเคราะห์ GnRH analogue ถ้านำไปฉีดให้กบบูลฟร็อกตัวเมีย วันละเข็ม ต่อเนื่อง 3-4 วัน สามารถชักนำให้เกิดการตกไข่ได้ (6)

วิธีดำเนินการทดลอง

สถานที่ทำการทดลอง : ฟาร์มเลี้ยงกบหน่วยพัฒนาการเคลื่อนที่ 32 กรป.กลาง อ.เชียงดาว จ.เชียงใหม่

กบทดลอง : พ่อแม่พันธุ์กบบูลฟร็อก จำนวน 121 คู่ มีอายุระหว่าง 16-18 เดือน มีน้ำหนักตัวอยู่ระหว่าง 250 กรัม ถึง 490 กรัม

อาหารที่ใช้เลี้ยง เป็นอาหารสำเร็จลูกสุนัข CP 012 และ 013

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง : สารสังเคราะห์ GnRH analogue (Suprefact) ฉีดร่วมกับยา motilium (5-10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม) สารทั้ง 2 ชนิด ละลายใน 0.1% acetic acid

วิธีฉีด : ฉีดเข้าใต้ผิวหนัง บริเวณ Dorsal lymph sac ตามวิธีของ Easley et al (3) ต่อเนื่องวันละ 1 เข็ม เวลา 15:00 น. ทุกวัน

ระยะที่ทำการทดลอง : ช่วงที่ 1 (มิถุนายน-สิงหาคม 2533)
ช่วงที่ 2 (มิถุนายน-สิงหาคม 2534)

การทดลองที่ 1 เป็นการทดสอบเบื้องต้นในการใช้ GnRH analogue ฉีดกระตุ้นให้กบบูลฟร็อกจับคู่ผสมพันธุ์ในบ่อเลี้ยงขนาด 1 $ม^2$ แบ่งออกเป็น 3 วิธี ดังต่อไปนี้

วิธีที่ 1 ฉีดกระตุ้นตัวเมียด้วย GnRH analogue จำนวน 1 เข็ม ในปริมาณ 2 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ตัวผู้ปล่อยลงบ่อโดยไม่ต้องฉีด

วิธีที่ 2 ฉีดกระตุ้นตัวเมียด้วย GnRH analogue จำนวน 2 เข็ม ในปริมาณ 2 และ 3 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ฉีดกระตุ้นตัวผู้ 1 เข็ม ในปริมาณ 3 ไมโครกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (พร้อมตัวเมียเข็มสุดท้าย)

วิธีที่ 3 ฉีดกระตุ้นตัวเมียด้วย GnRH analogue จำนวน 3 เข็ม ในปริมาณ 2,3 และ 3 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ฉีดกระตุ้นตัวผู้ 1 เข็ม ในปริมาณ 3 ไมโครกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (พร้อมตัวเมียเข็มสุดท้าย)

การทดลองที่ 2 ฉีดกระตุ้นตัวเมียด้วย GnRH analogue จำนวน 2 เข็ม ในปริมาณ 2 และ 3 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ตัวผู้ไม่ต้องฉีดกระตุ้น

การทดลองที่ 3 ฉีดกระตุ้นตัวเมียด้วย GnRH analogue จำนวน 3 เข็ม ในปริมาณ 2,3 และ3 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ตัวผู้ไม่ต้องฉีดกระตุ้น

จากนั้นปล่อยกบแต่ละคู่ลงในบ่อผสมพันธุ์ ขนาดพื้นที่ 1 ตารางเมตร มีน้ำลึก 10 เซนติเมตร ติดตามผลการวางไข่ในเวลา 1-3 วัน ตรวจดูผลการปฏิสนธิ และนับจำนวนของลูกอ๊อดเมื่ออายุครบ 1 เดือน

ผลการทดลอง

จากผลการทดลองที่ 1 พบว่าการใช้สาร GnRH analogue ในปริมาณต่างๆกันฉีดเข้าไปในกบบูลฟร็อก สามารถกระตุ้นการตกไข่ 100 % แต่เกิดการปฏิสนธิเพียง 50 % ดังในตารางที่ 1,2 และ3 และจากผลการนับจำนวนลูกอ๊อดที่ได้ทั้งหมดเมื่อทำการย้ายแล้วนับรวมกันทุกบ่อผลปรากฏว่าจำนวนลูกอ๊อดที่ได้จากการทดลองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ1,314.7ตัวต่อ 1 คู่

ผลการทดลองที่ 2 ในจำนวนกบทั้งหมด 60 คู่ โดยใช้ GnRH analogue จำนวน 2 เข็ม (ปริมาณ 2 และ 3 ไมโครกรัม) ฉีดต่อเนื่องกัน 2 วันให้กับกบบูลฟร็อกตัวเมีย สามารถกระตุ้นให้ตัวเมียเกิดการวางไข่เมื่อฉีดเข็มแรกเพียงเข็มเดียวได้ในจำนวน 16 คู่ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 26.6 และตัวเมียเกิดการวางไข่เมื่อฉีดครบ 2 เข็มเป็นจำนวน 44 คู่ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 73.4 สำหรับการตรวจสอบผลการปฏิสนธิพบว่าเฉลี่ยสูงถึง 92 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4)

ผลการทดลองที่ 3 กบจำนวน 51 คู่ ฉีดด้วย GnRH analogue จำนวน 3 เข็ม ปริมาณ 2,3 และ 3 ไมโครกรัม ให้กบตัวเมียวันละ 1 ครั้ง ต่อเนื่องเป็นเวลา 3 วัน สามารถกระตุ้นให้กบตัวเมียวางไข่เมื่อฉีดเข็มที่1 ได้ในจำนวน 20 ตัว เมื่อฉีดครบ2 เข็ม ได้จำนวน 20 ตัวและจำนวน 11 ตัว เมื่อฉีดครบ 3 เข็ม ผลการปฏิสนธิโดยเฉลี่ยเท่ากับ 93 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5)

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองนี้ พอสรุปได้ว่า เมื่อฉีดสาร GnRH analogue ให้กับกบบูลฟร็อกที่โตเต็มวัย สามารถชักนำให้กบบูลฟร็อกตัวเมียเกิดการตกไข่ ส่วนในตัวผู้จากการทดลองในครั้งนี้ พบว่ายังไม่ต้องใช้ออร์โมนฉีดกระตุ้นก็สามารถทำให้กบจับคู่ผสมพันธุ์ได้ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่ายังอยู่ในช่วงของฤดูสืบพันธุ์ (กพ.-สค.)

ซึ่งการผสมพันธุ์โดยวิธีนี้อาจจัดว่าเป็นวิธีผสมแบบกึ่งธรรมชาติ (semi-natural หรือ hormone-induced reproduction in ponds) ผลที่ได้ค่อนข้างสูง(ซึ่งวิธีนี้น่าจะสามารถนำไปใช้ในการขยายพันธุ์กบบูลฟร็อกร่วมกับวิธีผสมแบบธรรมชาติ อาจจะทำให้สามารถผลิตลูกอ๊อดได้ในปริมาณที่เพิ่มขึ้นกว่าปกติ)

อนึ่งการทดลองในครั้งนี้ เป็นการทดลองครั้งแรกที่ใช้ GnRH analogue ฉีดกระตุ้นให้กบจับคู่ผสมพันธุ์ในบ่อเลี้ยง และเป็นการทดลองที่ยังอยู่ในช่วงฤดูสืบพันธุ์ ของกบบูลฟร็อกในประเทศไทยซึ่งอยู่ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนสิงหาคม ผลที่ได้จึงค่อนข้างสูง ดังนั้นเพื่อที่จะทำให้เกษตรกรสามารถผลิตลูกอ๊อดได้ตลอดปีนั้น การศึกษาวิธีการและการปรับปรุงแก้ไขเพื่อพัฒนาวิธีการขยายพันธุ์กบให้เหมาะสมกับระยะเวลาของฤดูกาลต่างๆ เช่นช่วงต้นฤดูสืบพันธุ์ ปลายฤดูสืบพันธุ์ หรือนอกฤดูสืบพันธุ์ เหล่านี้เป็นต้น จึงมีความจำเป็นต้องศึกษารายละเอียดเพิ่มเติม ทั้งนี้เพราะในช่วงฤดูกาลต่างๆ กบจะมีความสามารถในการสืบพันธุ์ได้ไม่เท่ากันซึ่งก็น่าจะมีการศึกษาทดลองในขั้นต่อไป

บทที่ 4

การกระตุ้นการตกไข่ และการหลั่งน้ำเชื้อในกบบูลฟร็อก (Rana catesbeiana) นอกฤดูผสมพันธุ์ด้วย GnRH analogue

---

บทคัดย่อ

การใช้ GnRH analogue ปริมาณต่างๆกันฉีดกระตุ้นกบบูลฟร็อกนอกฤดูกาลผสมพันธุ์ เพื่อให้แม่พันธุ์ให้ตกไข่ ของพ่อพันธุ์หลั่งน้ำเชื้ออสุจิ

พบว่าเมื่อฉีด GnRH analogue เข้าใต้ผิวหนังให้กับเพศเมียอย่างต่อเนื่องในขนาด 5 และ 10 หรือ 5, 10 และ 10 หรือ 5,10,10 และ 10 ไมโครกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถกระตุ้นให้เกิดการตกไข่ได้ 20,20,40 และ 10% ตามลำดับ สำหรับการฉีด GnRH analogue ปริมาณสูงในขนาด 10,20,20 และ 20 หรือ 10,20,20,20, และ 20 ไมโครกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถกระตุ้นให้เกิดการตกไข่ได้ 70 และ 20 % ตามลำดับ

ในกบเพศผู้การฉีด GnRH analogue เพียง 1 เข็มเข้าใต้ผิวหนังในขนาด 5 หรือ 10 หรือ 20 ไมโครกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถกระตุ้นให้มีการหลั่งน้ำเชื้อได้ 100 %

คำนำ

การชักนำให้เกิดการตกไข่และการหลั่งน้ำเชื้อในกบ ได้มีการศึกษาทดลองมาแล้วเป็นเวลาประมาณ 60 ปี โดยการฉีดสารสกัดจากต่อมใต้สมองของกบ หรือของสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำอื่นๆให้กับแอนนูแรน (anuran) ที่โตเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมีย (1) ถึงแม้ว่าฮอร์โมนหลายๆชนิดได้ถูกนำมาใช้ในการชักนำให้เกิดการผสมพันธุ์ในกบ (2,3,4) รวมทั้ง gonadotropin releasing hormone (LH/FSH-RH) ก็ได้ถูกนำมาใช้ในการกระตุ้นให้กบบูลฟร็อกเพศผู้หลั่งน้ำเชื้อเช่นกัน (3, 5) ต่อมาได้มีการนำ agonistic และ antagonistic analogs ของ gonadotropin releasing hormone (GnRH) มาใช้ในการชักนำให้เกิดการตกไข่ และการหลั่งน้ำเชื้อในบูลฟร็อก (6)

ปัจจุบันได้มีการทำฟาร์มเลี้ยงกบบูลฟร็อกทางภาคเหนือของประเทศไทย แต่ผลผลิตไม่เพียงพอแก่การบริโภคตลอดทั้งปี เนื่องจากเกษตรกรผลิตลูกกบได้เฉพาะฤดูผสมพันธุ์ (มีนาคม-สิงหาคม) ของแต่ละปีเท่านั้น เพื่อเป็นการแก้ไขปัญหาดังกล่าวที่เกิดขึ้นการทดลองนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีการกระตุ้นหรือชักนำให้กบบูลฟร็อกผสมพันธุ์นอกฤดูกาล

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

สัตว์ทดลอง กบบูลฟร็อกโตเต็มวัย อายุ 12-18 เดือน เพศเมีย น้ำหนักระหว่าง 320-460 กรัม จำนวน 30 ตัว เพศผู้ น้ำหนักระหว่าง 350-430 กรัม จำนวน 40 ตัว จากฟาร์มเลี้ยงกบ จังหวัดเชียงใหม่ โดยทำการทดลองในเดือนมกราคม 2533

สารเคมี

1. สารสังเคราะห์ (Suprefact GnRH analogue) จากบริษัทเฮิร์ก
2. สารใช้ฉีดร่วม (กับ GnRH analogue) Motilium
   (5-10 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม)

สารเคมีทั้ง 2ชนิดละลายใน 0.1 % acetic acid และฉีดเข้าใต้ผิวหนังบริเวณ dorsal lymph sac

การทดลองที่ 1. การกระตุ้นการตกไข่

นำบูลฟร็อกเพศเมียโตเต็มวัย อายุ 12-18 เดือน น้ำหนักระหว่าง 320-460 กรัม จำนวน 30 ตัว แบ่งเป็น 3 กลุ่มๆละ 10 ตัว นำมาฉีดสารเคมีต่างๆดังนี้

กลุ่มควบคุม แต่ละตัวฉีด 1 ml 0.1 % Acetic acid/นน.ตัว 1 กิโลกรัม

กลุ่มทดลองที่ 1. แต่ละตัวฉีด GnRH analogue จำนวน 5 dose ตามลำดับดังนี้ 5, 10, 10, 10, และ 10 ไมโครกรัม/นน.ตัว 1 กิโลกรัม

กลุ่มทดลองที่ 2. แต่ละตัวฉีด GnRH analogue จำนวน 5 dose ตามลำดับดังนี้ 10, 20, 20, 20, และ 20 ไมโครกรัม/นน.ตัว 1 กิโลกรัม

ช่วงระยะเวลาของการฉีดสารเคมีแบ่งได้ดังนี้

เข็มที่ 1 ---(๑ ชม.)---> เข็มที่ 2 ---(๑๘ ชม.)---> เข็มที่ 3 ---(๑ ชม.)---> เข็มที่ 4 ---(๑๘ ชม.)---> เข็มที่ 5

ก่อนการฉีดสารเคมีเข็มถัดไปทุกครั้ง ทำการตรวจสอบการตกไข่ด้วยการริดไข่ทันที สัตว์ทดลองตัวใดที่ทำการริดไข่ได้จะยุติการฉีดสารเคมีเข็มถัดไป

การทดลองที่ 2. การกระตุ้นการหลั่งน้ำเชื้อ

นำกบบูลฟร็อกเพศผู้โตเต็มวัย อายุเท่ากับตัวเมียในการทดลองที่ 1 มีน้ำหนักระหว่าง 350-430 กรัม จำนวน 40 ตัว โดยแบ่งเป็น 4 กลุ่มๆละ 10 ตัว นำมาฉีดสารเคมีต่างๆ ดังนี้

กลุ่มควบคุม แต่ละตัวฉีด 1 ml 0.1 % Acetic acid/นน.ตัว 1 กิโลกรัม

กลุ่มทดลองที่ 1-3 แต่ละตัวฉีด GnRh analogue 5 หรือ 10 หรือ 20 ไมโครกรัม /นน.ตัว 1 กิโลกรัม

ตรวจสอบการหลั่งน้ำเชื้อ (6) โดยทำการริดน้ำเชื้อ แล้วนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ก่อนการฉีด และหลังการฉีด 20, 30, 45 และ 60 นาที ตามลำดับ

ผลการทดลอง

ผลของ GnRH analogue ต่อการตกไข่

จากตารางที่ 1-4 พบว่า กบเพศเมียกลุ่มทดลองทั้งสองกลุ่มตอบสนองต่อ GnRH analogue ส่วนกลุ่มควบคุมที่ฉีด 0.1 % acetic acid ไม่ตอบสนอง

เวลาที่ใช้ในการตกไข่ของกบแต่ละตัวผันแปรไปตามปริมาณของ GnRH analogue ที่ใช้ฉีดกระตุ้นดังนี้

กลุ่มทดลองที่ 1. พบว่า ภายหลังการฉีด GnRH analogue เข็มที่ 2 (5 และ 10 ไมโครกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม) กบจำนวน 2 ตัว (20%)ตกไข่ ในขณะที่กบจำนวน 2 ตัว (20%), 4 ตัว (40%) และ 1 ตัว (10%) ตกไข่ภายหลังการฉีดเข็มที่ 3 (5, 10 และ 10 ไมโครกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม) เข็มที่ 4 (5,10,10,10 และ 10ไมโครกรัม /น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม) และเข็มที่ 5 (5,10,10,10 และ 10 ไมโครกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม) มีกบเพียง 1 ตัว (10%) ที่ไม่มีการตกไข่

กลุ่มทดลองที่ 2. พบว่าภายหลังการฉีด GnRH analogue เข็มที่ 4 (10,20,20 และ 20 ไมโครกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม) กบ 7 ตัว (70%) ตกไข่ แต่อีก 2 ตัว (20%) ตกไข่ภายหลังการฉีดเข็มที่ 5 (10,20,20,20 และ 20 ไมโครกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม) มีกบ 1 ตัว (10%) ไม่ตกไข่

ผลของ GnRH analogue ต่อการหลั่งน้ำเชื้อ

จากตารางที่ 5 พบว่า กบเพศผู้กลุ่มควบคุมที่ฉีด 1 ml 0.1 % acetic acid/ น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ไม่มีการหลั่งน้ำเชื้ออสุจิ ส่วนกลุ่มทดลองทั้ง 3 กลุ่มที่ฉีด GnRH analogue เพียงครั้งเดียวในปริมาณ 5 หรือ 10 หรือ 20 ไมโครกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถกระตุ้นให้มีการหลั่งน้ำเชื้อได้ทุกตัว

สำหรับเวลาที่ใช้ในการตอบสนองต่อการกระตุ้น เพื่อให้มีการหลั่งน้ำเชื้อเป็นดังนี้ พบว่าภายหลังการฉีด GnRH analogue 5 ไมโครกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถกระตุ้นให้กบ 70% หลั่งน้ำเชื้อในเวลา 45 นาที และกบ 30% หลั่งน้ำเชื้อในเวลา 60 นาที ส่วนภายหลังการฉีด GnRH analogue 10หรือ20 ไมโครกรัม/น้ำหนักตัว1 กิโลกรัม พบว่าให้ผลเช่นเดียวกันโดยสามารถกระตุ้นให้กบ 80% หลั่งน้ำเชื้อในเวลา 45 นาที และกบ 20% หลั่งน้ำเชื้อในเวลา 60 นาที

ตารางที่ 1. ผลของ 0.1% acetic acid (1 ml/ น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ที่มีต่อการตกไข่ (กลุ่มควบคุม)

ตัวที่	น้ำหนักตัว (กรัม)	การตกไข่ภายหลังการฉีด					หมายเหตุ
		เข็มที่ 1	เข็มที่ 2	เข็มที่ 3	เข็มที่ 4	เข็มที่ 5	
1	383	–	–	–	–	–	ตกไข่ +
2	355	–	–	–	–	–	ไม่ตกไข่-
3	430	–	–	–	–	–	
4	387	–	–	–	–	–	
5	415	–	–	–	–	–	
6	405	–	–	–	–	–	
7	375	–	–	–	–	–	
8	385	–	–	–	–	–	
9	370	–	–	–	–	–	
10	450	–	–	–	–	–	
Mean±SD	395.5± 29.2	–	–	–	–	–	–

ตารางที่ 2 ผลของการฉีด GnRH analogue 5 เข็มต่อเนื่องในปริมาณ 5, 10, 10, 10 และ 10 ไมโครกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ต่อการตกไข่(กลุ่มทดลองที่1)

ตัวที่	น้ำหนักตัว (กรัม)	การตกไข่ภายหลังการฉีด					หมายเหตุ
		เข็มที่ 1	เข็มที่ 2	เข็มที่ 3	เข็มที่ 4	เข็มที่ 5	
1	386	–	–	+			ตกไข่ +
2	460	–	+				ไม่ตกไข่-
3	440	–	+				
4	420	–	–	+			
5	400	–	–	–	+		
6	390	–	–	–	+		
7	400	–	–	–	–	+	
8	460	–	–	–	+		
9	330	–	–	–	+		
10	325	–	–	–	–	–	
Mean±SD	401.1± 47.2	–	–	–	–	–	–

ตารางที่ 3 ผลของการฉีด GnRH analogue 5 เข็มต่อเนื่องในปริมาณ 10,20,20,20 และ 20 ไมโครกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ต่อการตกไข่ (กลุ่มทดลองที่2)

ตัวที่	น้ำหนักตัว (กรัม)	การตกไข่ภายหลังการฉีด					หมายเหตุ
		เข็มที่ 1	เข็มที่ 2	เข็มที่ 3	เข็มที่ 4	เข็มที่ 5	
1	320	–	–	–	–	+	ตกไข่ +
2	425	–	–	–	–	+	ไม่ตกไข่-
3	470	–	–	–	+		
4	440	–	–	–	+		
5	400	–	–	–	+		
6	375	–	–	–	+		
7	450	–	–	–	+		
8	425	–	–	–	+		
9	390	–	–	–	–	–	
10	350	–	–	–	+		
Mean±SD	400.5± 42.1	–	–	–	–	–	–

ตารางที่ 4 สรุปผลของการฉีด GnRH analogue ปริมาณต่างๆกัน ที่มีต่อการตกไข่

การทดลอง	น้ำหนักตัวเฉลี่ย(กรัม) Mean±SD.	ปริมาณที่ฉีด (ไมโครกรัม)/ นน.ตัว 1 กก.	จำนวนกบทดลอง	จำนวน%กบที่มีการตกไข่ภายหลังการฉีด				
				เข็มที่ 1	เข็มที่ 2	เข็มที่ 3	เข็มที่ 4	เข็มที่ 5
กลุ่มควบคุม 0.1 % acetic acid 1 ml/ kg.BW	395.5± 29.2	–	10	0	0	0	0	0
กลุ่มทดลอง (GnRH analogue)								
กลุ่มทดลองที่ 1	401.1± 47.2	5,10,10, 10,10	10	0	20	20	40	10
กลุ่มทดลองที่ 2	400.5± 42.1	10,20,20, 20,20	10	0	0	0	70	20

ตารางที่ 5. ผลของการฉีด GnRH analogue ปริมาณต่างๆกัน ที่มีต่อการหลั่งน้ำเชื้อ

การทดลอง	น้ำหนักตัวเฉลี่ย(กรัม) Mean±SD.	ปริมาณที่ฉีด (ไมโครกรัม)/ น.น.ตัว 1 กก.	จำนวนกบทดลอง	จำนวนกบที่มีการหลั่งน้ำเชื้อ				
				0 นาที	20 นาที	30 นาที	45 นาที	60 นาที
กลุ่มควบคุม 0.1 % acetic acid 1 ml/ kg.BW	387.8±26	–	10	0	0	0	0	0
กลุ่มทดลอง GnRH analogue	395.2±21.8	5	10	0	0	0	70	30
	393.3±31.2	10	10	0	0	0	80	20
	386.2±25.1	20	10	0	0	0	80	20

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการใช้ GnRH analogue กระตุ้นให้กบบูลฟร็อกเกิดการตกไข่ และหลั่งน้ำเชื้อในช่วงเวลานอกฤดูกาลผสมพันธุ์ในครั้งนี้ พบว่ากบเพศเมียที่มีน้ำหนักตัวมากกว่า 400 กรัม จะสามารถกระตุ้นให้เกิดการตกไข่ได้ง่ายกว่า ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าระยะการเจริญของไข่ในรังไข่อยู่ใน stage ที่เหมาะสมสำหรับการกระตุ้นได้ง่าย (stage VI ขึ้นไป) (7) สำหรับการฉีด GnRH analogue หลายๆ dose ทั้งปริมาณต่ำ (5, 10, 10, 10, และ 10 ไมโครกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม) หรือปริมาณสูง (10, 20, 20, 20 และ 20 ไมโครกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม)อย่างต่อเนื่องกันพบว่า สามารถกระตุ้นให้เกิดการตกไข่ได้แต่การตอบสนองแตกต่างกันไป synthetic GnRH analogue ไปกระตุ้นการหลั่ง pituitary gonadotropin (FSH และ LH) (6) จึงมีผลกระตุ้นให้เกิดการตกไข่ได้ (5,6)แต่ปริมาณของสารเคมีและเวลาที่ใช้สำหรับการตอบสนองของ กบแตกต่างกันไปในกบแต่ละตัว ทั้งนี้อาจขึ้นกับระยะการเจริญของไข่ในรังไข่ของกบแต่ละตัวอาจอยู่ใน stage ที่แตกต่างกันอยู่แล้ว ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลอง (7)

การทดลองนี้สามารถชักนำให้มีการหลั่งน้ำเชื้อในกบเพศผู้โดยใช้ GnRH analogue ปริมาณ 5 ไมโครกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม แต่เวลาที่ใช้ในการตอบสนองแตกต่างกัน ผลนี้เหมือนกับการใช้ LH/FSH-RH 5 mg (3)

อย่างไรก็ตาม การศึกษาทดลองนี้ ซึ่งคาดว่าน่าจะเป็นการทดลองเป็นครั้งแรกที่มีการนำ GnRH analogue มาใช้ในการกระตุ้นให้เกิดการตกไข่และการหลั่งน้ำเชื้อในกบบูลฟร็อกนอกฤดูกาลในประเทศไทย ซึ่งผลของงานวิจัยนี้จะนำไปสู่การพัฒนาวิธีการขยายพันธุ์นอกฤดูกาลในฟาร์มเลี้ยง เช่น การผสมเทียมเพื่อใช้ในการแก้ปัญหาให้แก่เกษตรกรผู้เลี้ยงกบ ในการที่ผลิตกบเนื้อให้ได้ตลอดปีตามความต้องการของตลาดทั้งในประเทศ และต่างประเทศต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Rugh,R.,1934. Induced ovulation and artificial fertilization in the frog. Biological Bulletin, 66:22-29.

Company. Minnesota. pp. 91-103.

2. Mckinnell, R.G., Picciano, D.J. and Krieg, R. E., 1976. Fertilization and development of frog eggs after repeated spermiation induced by human chorionic gonadotropin. Laboratory Animal Science, 26(6): 930-935.

3. Easley, K.A., Culley, D.D., Horseman, N.D. and Penkala, J.E., 1979. Environmental influenced on hormonal induced spermiation of the bullfrog. Rana catesbeiana. Exp Zool, 207 : 407-416.

4. Licht, P.,1973. Induction of spermiation in anurans by mammalian pituitary gonadotropins and their subunits. General and Comparative Endocrinology. 20, 522-529.

5. Daniels, E., and Licht, P., 1980. Effects of gonadotropin (FSH and LH) in the bullfrog Rana catesbeiana. Gen. Comp. Endocrinol, 32 : 146-157.

6. McCreery, B.R., Licht, P, Barnes, R., Rivier, J.E. and Vale, W.W., 1982. Action of agonistic and antagonistic analogs of gonadotropin releasing hormone (GnRH) in the bullfrog Rana catesbeiana. General and Comparative Endocrinology. 46 : 511-520.

7. Dumont, J.W., 1972. Oogenesis in Xenopus laevis Daudin I. Stage of oocyte development in laboratory maintained animals. J. Morphol, 136: 153-180.

บทที่ 5

อิทธิพลของอุณหภูมิต่อการเจริญระยะเมตามอโฟซิส (metamorphosis) ของกบบูลฟร็อก (Rana catesbeiana) ที่เลี้ยงในภาคเหนือของประเทศไทย

บทคัดย่อ

จากการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญระยะเมตามอโฟซิสของกบบูลฟร็อกในช่วงปลายฤดูกาลเพาะเลี้ยง ในพื้นที่ 2 แห่ง ซึ่งมีอุณหภูมิแตกต่างกัน คือ อ.เชียงดาว จ.เชียงใหม่ และ อ.พญาไท กรุงเทพมหานคร พบว่า

อุณหภูมิมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงในระยะต่างๆของลูกอ๊อด โดยที่ลูกอ๊อดที่เลี้ยงในจังหวัดเชียงใหม่ จะมีระยะเวลาของการเจริญในช่วงระยะเมตามอโฟซิสนานกว่าลูกอ๊อดที่เลี้ยงในกรุงเทพมหานคร ซึ่งจากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ระยะเวลาของการเปลี่ยนแปลงของช่วงต่างๆมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่ลูกอ๊อดใน กทม. จะเจริญไปเป็นลูกกบเล็กได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงระยะเวลา 6 เดือน ส่วนลูกอ๊อดที่เลี้ยงในจังหวัดเชียงใหม่ในช่วงอายุ 6 เดือน ยังพบว่ามีการเจริญของระยะต่างๆ แบ่งออกเป็น Limb bud stage, Foot paddle stage และ metamorphic stage เท่ากับ 14.75, 15.78 และ 69.47 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

บทนำ

กบเป็นสัตว์เลือดเย็นประเภทครึ่งบกครึ่งน้ำที่มีสภาพแวดล้อมหลายชนิดเป็นปัจจัยที่สำคัญและมีผลต่อการเจริญเติบโตในระยะต่างๆ ตั้งแต่ระยะเอมบริโอ เมตามอโฟซิส (metamorhosis) ไปจนถึงกบใหญ่ที่โตเต็มที่สามารถสืบพันธุ์ได้ ได้มีผู้ทำการศึกษาพบว่าลูกอ๊อดที่เลี้ยงรวมกันอย่างหนาแน่นในพื้นที่จำกัด จะมีผลต่อระยะเวลาของการเจริญระยะเมตามอโฟซิส และขนาดลำตัวของลูกอ๊อด(1,2,3,4,5,6)ส่วนชนิดของอาหารและคุณภาพของอาหารก็มีผลต่อการเจริญระยะเมตามอโฟซิสเช่นกัน (2,7)ในทำนองเดียวกันจากการศึกษาพบว่าปริมาณอาหารที่จำกัดมีผลต่อการลดขนาดลำตัวของลูกอ๊อด (8). อุณหภูมินับว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญของลูกอ๊อดเช่นกัน ซึ่งจากการศึกษาพบว่าลูกอ๊อดที่อาศัยอยู่ในน้ำที่เย็นที่มีอุณหภูมิต่ำจะทำให้การเจริญระยะเมตามอโฟซิสนานขึ้น และมีขนาดลำตัวเพิ่มขึ้น (9) นอกจากนี้อุณหภูมิยังเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการแสดงออกทางพฤติกรรม กบจะรับความรู้สึกต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิได้อย่างรวดเร็วเนื่องจากเป็นสัตว์เลือดเย็น ดังนั้นเมื่ออุณภูมิภายนอกลดต่ำลงอุณภูมิภายในร่างกายก็จะลดต่ำลงไปด้วย จากการศึกษาของ Rubner (10) พบว่า กบชนิด Rana esculenta ถ้าอาศัยอยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีอุณภูมิเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส อุณภูมิในร่างกายของกบชนิดนี้ จะเหลือเท่ากับ 25 องศาเซลเซียส และถ้าอุณภูมิภายนอกเท่ากับ 3 องศาเซลเซียส อุณภูมิร่างกายจะเกือบเท่ากับ 0 องศาเซลเซียส ซึ่งจากการที่สัตว์ประเภทนี้มีอุณภูมิของร่างกายลดต่ำกว่าสภาพแวดล้อม ทำให้กระบวนการเมตาบอลิซึมภายในร่างกายเปลี่ยนแปลง และมีผลต่อเนื่องไปยังพฤติกรรมต่างๆเช่น การกินอาหาร การสืบพันธุ์ เป็นต้น ทั้งนี้จากการทำงาน ของฮอร์โมนภายในร่างกายทำงานได้ไม่ตามปกติ ตัวอย่างเช่น การทำงานของกระบวนการ endocrine feedback mechanism ที่มีผลเนื่องจากการทำงานระหว่าง hypothalamus, pituitary, thyroid gland การหลั่งของ growth hormone ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการควบคุมการเจริญระยะเมตตามอโฟซิสของสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ (11,12)

ในปัจจุบันได้มีผู้นำกบพันธุ์ต่างประเทศ คือกบบูลฟร็อก (Rana catesbeiana) เข้าทำฟาร์มมาเพาะเลี้ยงเป็นครั้งแรกที่จังหวัดเชียงใหม่ และในขณะนี้กำลังนิยมเลี้ยงเป็นอาชีพกันแพร่อยู่ทั่วไปในภาคเหนือของประเทศ กบชนิดนี้สามารถขยายพันธุ์โดยวิธีธรรมชาติในบ่อเลี้ยงได้ดีกว่ากบนา เพราะมีระยะเวลาที่นานกว่าตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ไปจนถึงเดือนสิงหาคมและอาจจะเลยไปจนถึงเดือนตุลาคม แต่เนื่องจากกบบูลฟร็อกก็เช่นเดียวกับกบชนิดอื่นที่เป็นสัตว์เลือดเย็น สภาพแวดล้อมต่างๆก็เป็นปัจจัยที่สำคัญที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกบชนิดนี้เช่นกัน (8)

ดังนั้นเพื่อเป็นแนวทางในการที่จะปรับปรุงแก้ไขและพัฒนาอาชีพการทำฟาร์มเลี้ยงกบบูลฟร็อกในประเทศไทยให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น และเพื่อการแก้ไขการขาดแคลนลูกอ๊อดและลูกกบเล็ก ในการที่จะนำไปเพาะเลี้ยงให้มีผลผลิตตลอดปีอีก ทั้งเพื่อที่จะนำกบชนิดนี้ไปทำการเลี้ยงผสมผสานร่วมกับการเลี้ยงกบนาในการที่จะทำให้มีผลผลิตออกสู่ตลาดได้อย่างต่อเนื่อง การศึกษาทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ "ศึกษาอิทธิพลของอุณภูมิที่มีต่อการเจริญระยะเมตามอโฟซิสของกบบูลฟร็อก ในช่วงปลายฤดูกาลเพาะเลี้ยงตั้งแต่เดือน ธันวาคมถึงเดือนมีนาคม ของปีถัดไปในพื้นที่สองแห่งที่มีอุณหภูมิแตกต่างกัน ได้แก่ ภาคเหนือ อ.เชียงดาว จ.เชียงใหม่ ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 6-37 องศาเซลเซียส และ ภาคกลาง คือ เขตกรุงเทพมหานครฯ ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 24-36 องศาเซลเซียส

วิธีดำเนินการทดลอง

1. สถานที่ทำการทดลอง

   1.1 ฟาร์มเลี้ยงกบบูลฟร็อก หน่วยพัฒนาเคลื่อนที่ 32 กรป.กลาง อ.เชียงดาว จ.เชียงใหม่ (มีอุณหภูมิระหว่าง 6-37 องศาเซลเซียส)

   1.2 บ่อเลี้ยงกบทดลอง ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยา กรุงเทพมหานคร (มีอุณหภูมิระหว่าง 24-37 องศาเซลเซียส)

2. การทดลอง

2.1 นำลูกอ๊อดที่ได้จากไข่ของแม่กบที่ผสมพันธุ์ในเดือน กันยายน 2533 จำนวน 400 ตัว แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มๆละ 200 ตัว นำมาเลี้ยงในบ่อเลี้ยงที่มีพื้นที่ 1 ตารางเมตร มีน้ำลึก 30 เซนติเมตร ของการทดลองทั้ง 2 แห่ง

2.2 ทำการศึกษาการเจริญของลูกอ๊อด โดยวิธีของ Taylor และ Kollros (13)

วัดครั้งที่ 1 เมื่อลูกอ๊อดอายุได้ 3.5 เดือน (26 ธันวาคม 2533)

วัดครั้งที่ 2 เมื่อลูกอ๊อดอายุได้ 5.0 เดือน (15 กุมภาพันธ์ 2534)

วัดครั้งที่ 3 เมื่อลูกอ๊อดอายุได้ 6.5 เดือน (28 มีนาคม 2534)

3. นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ (analysis of variance) เปรียบเทียบการเจริญของกบบูลฟร็อกทั้ง 2 แห่ง

ผลการศึกษา

1. จากการศึกษาพบว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญระยะ metamorphosis ขนาดของลูกอ๊อด และกบเล็ก

1.1 การเจริญของลูกอ๊อดกบบูลฟร็อกระยะต่างๆทั้งในจังหวัดเชียงใหม่ และกรุงเทพมหานคร จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีระยะเวลาความเจริญเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 1)

1.2 ขนาดกบบูลฟร็อกที่เลี้ยงในกรุงเทพมหานคร และที่ จ.เชียงใหม่ ระยะเดือนที่ 3.5 พบว่าในระยะ Limb bud stage มีความยาวเฉลี่ยจากปลายปากถึงหาง 7.21±0.75 และ 7.1±0.94 และความอ้วนเฉลี่ย 1.57±0.2 และ 1.80±0.25 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้ 15.5 และ 90 ตามลำดับ ในระยะ foot paddle stage มีความยาวจากปลายปากถึงปลายหาง เฉลี่ย 8.49±0.8 และ 9.07±0.54 และความอ้วนลำตัวเฉลี่ยได้ 1.78±0.18 และ 2.29±0.18 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้ 84.5 และ 10 ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

1.3 ขนาดกบบูลฟร็อกในกรุงเทพ และเชียงใหม่ ระยะเดือนที่ 5 พบว่า ระยะ limd bud stage พบแต่ในเชียงใหม่ 83.68% มีขนาดความยาวเฉลี่ย 8.2±1.14 ความอ้วนลำตัวเฉลี่ย 1.86±0.4 ส่วนในกทม. ไม่พบระยะ Foot paddle stage ในกรุงเทพปรากฏ 25.5 % และเชียงใหม่ 16.32 % เทียบขนาดของกบในกรุงเทพ และเชียงใหม่ พบว่าความยาวลำตัวเฉลี่ยเป็น 10.86±2.3 และ 10.46±0.7 ส่วนความอ้วนเฉลี่ยได้ 2.42±0.18 และ 2.44±0.3 ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

1.4 ระยะเดือนที่ 6 กบในกรุงเทพ มี metamorphosis (ระยะที่ 3) เป็น 100 % ส่วนที่เชียงใหม่มี 14.75 % เป็นระยะที่1 15.78 % ระยะที่ 2 มี 69.47 % (ตารางที่ 1) (รูปที่ 1)

สรุปและวิจารณ์ผล

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า การเจริญของลูกอ๊อด ระยะเมตามอโฟซิส นอกฤดูกาลที่เลี้ยงในต่างสถานที่ ซึ่งมีอุณหภูมิแตกต่างกัน โดยที่กรุงเทพ จะมีอุณหภูมิเฉลี่ยสูงกว่าที่จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ (14) ที่แสดงให้เห็นว่าน้ำเมื่อมีอุณหภูมิต่ำลงจะมีผลต่อการหลั่งของฮอร์โมนไทรอยด์ให้น้อยลง ทำให้การเจริญในระยะเมตามอโฟซิสของลูกอ๊อดที่จ. เชียงใหม่เปลี่ยนแปลงไปช้ากว่าที่กรุงเทพ นอกจากนี้จากตารางที่ 1 ยังแสดงให้เห็นว่าลูกอ๊อดที่เลี้ยงในจังหวัดเชียงใหม่ ขนาดของลำตัวในแต่ละระยะจะมีขนาดใหญ่กว่าลำตัวของลูกอ๊อดที่เลี้ยงที่เชียงใหม่ ทั้งนี้มีผลเนื่องมาจากระยะเวลาของการเจริญที่นานกว่า(14) จากผลการศึกษาในครั้งนี้พอที่จะสรุปได้ว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญระยะเมตามอฟอซิสของกบบูลฟร็อก อย่างไรก็ตามในช่วงระยะเวลาเดียวกันกับสภาพพื้นที่ทั้ง 2 แห่ง ที่มีอุณหภูมิต่างกันนั้น การเจริญของลูกอ๊อดก็สอดคล้องกับการศึกษาต่างๆ ดังที่กล่าวมาแล้วในเบื้องต้น ดังนั้นถ้าจะทำการเพาะเลี้ยงกบบูลฟร็อกในประเทศไทยให้มีผลผลิตได้อย่างสม่ำเสมอ การเลือกพื้นที่ในการเพาะเลี้ยงที่มีอุณหภูมิสูงก็สามารถจะทำให้กบเจริญเติบโตได้ดีเช่นกัน

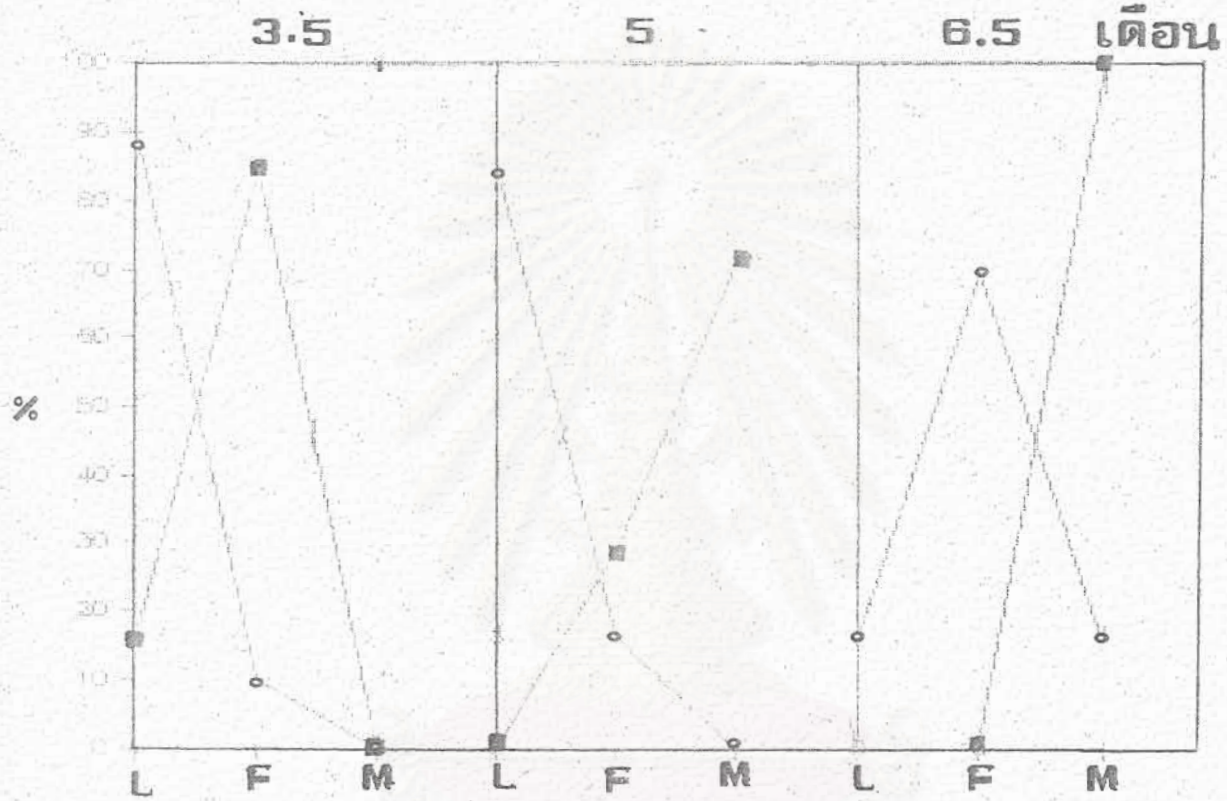
ตารางที่ 1. เปรียบเทียบขนาดลำตัว และเปอร์เซ็นต์การเจริญของลูกอ๊อด ของกบบูลฟร็อกที่เลี้ยงใน กทม. และเชียงใหม่

อายุ (เดือน)	ระยะการเจริญของลูกอ๊อด	% ระยะต่างๆของลูกอ๊อด		ขนาดลำตัวของลูกอ๊อด ความยาว (ซม.) Mean ± SD		ความกว้าง (ซม.) Mean ± SD	
		กทม.	เชียงใหม่	กทม.	เชียงใหม่	กทม.	เชียงใหม่
3.5	Limb bud stages (I)	15.5	90	7.21±0.75	7.14±0.94	1.57±0.2	1.80±0.25
	Foot paddle stage (IX)	84.5	10	8.49±0.8	9.07±0.54	1.78±0.18	2.29±0.18
	Metamorphic stage (XXV)	-	-	-	-	-	-
5.0	I	-	83.68	-	8.2±1.14	-	1.86±0.4
	IX	28.5	16.32	10.86±2.3	10.46±0.7	2.42±0.18	2.44±0.3
	XXV	71.5	-	-	-	-	-
6.5	I	-	15.78	-	7.4±1.0	-	1.79±0.3
	IX	-	69.47	-	9.8±1.0	-	2.30±0.2
	XXV	100	14.75	-	-	-	-

หมายเหตุ

ความยาวลำตัว วัดจากปลาย snout - tail

ความกว้างลำตัว วัดความกว้างของ abdomen



รูปที่ 1 แสดงการเจริญระยะต่างๆของลูกกบบูลฟร็อก
อายุ 3.5, 5 และ 6.5 เดือน เปรียบเทียบ 2 สถานที่
L = Limb bud stage
F = Foot paddle stage
M = Metamorphic stage

เอกสารอ้างอิง

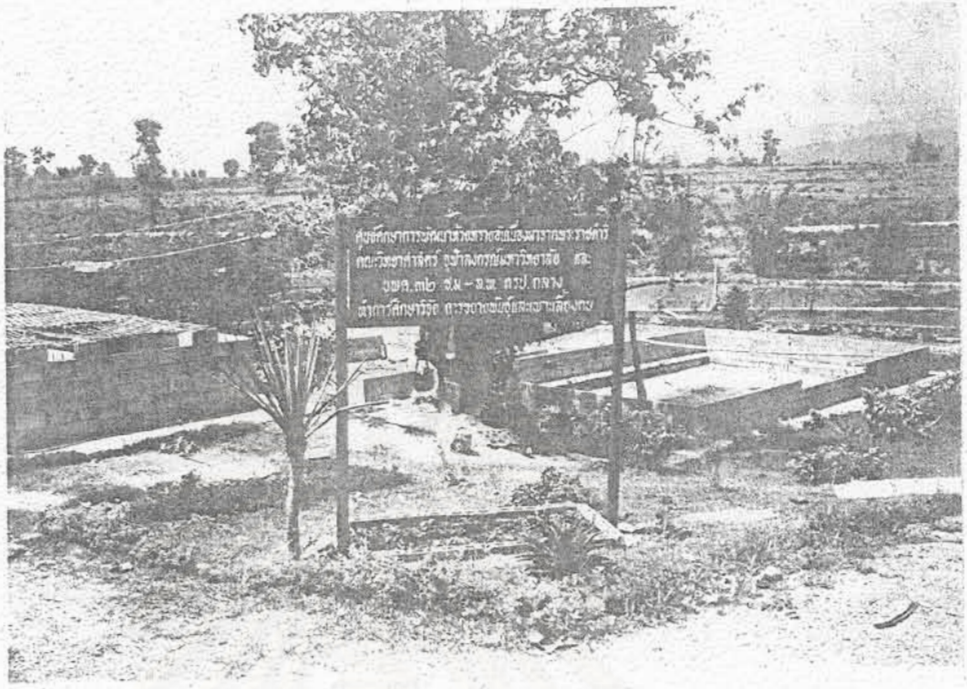
1. Richard, C.M. 1958. The inhibition of growth in crowded Rana pipiena tadpoles. Physiol. Zool. 31:138-151.
2. --------,1952. The control of tadpole growth by alga-like cells, Ibid. 35:285-296.
3. Rose, S.M. 1960. A feedback Mechanism of growth control in tadpoles. Ecol. Vol. 41, No. 1.:188-199.
4. Akin, G.C. Self-inhibition of growth in Rana pipiens tadpoles. 341-356.
5. Licht, L.E. 1967. Growth inhibition in crowded tadpoles: intraspecific and interspecific effects. Ecol. Vol. 48. No. 5:736-745.
6. Gromko, M.H. et al. Analysis of the crowding effect in Rana pipiens. Tadpoles. J. Exp. Zool., 186:63-72.
7. Brockelman. W.Y. 1969. Ecol. Vol, 50 no. 4.:632-644.
8. Collins, J.P. 1979. Intrapopulation variation in the body size at metamorphosis and timing of metamorphosis in the Bullfrog, Rana catesbeiana. Ecol. 60:738-749.
9. Atlas, M. 1935. The effect of temperature on the development of Rana pipiens. Physiol. Zool. Vol, no. 3.:290-310.
10. Rubner, Max. 1924. Aus dem Laben des Kaltbulter;II. Teil, Teil, Amphibian and Reptilien. Biochem. Zeitschr. CXLVIII, 268-307.
11. Etkin, W. 1932. Growth and reapsortion phenomena in Anuran metamorphosis I. Physical. Zool. Vol. 5: 275-300.

12. Viparina, S. and J.J. Just 1975. The life Period, Growth and Differentiation of Rana catesbeiana larvae Occuring in Nature. Copeia. Vol. 1:103-109.

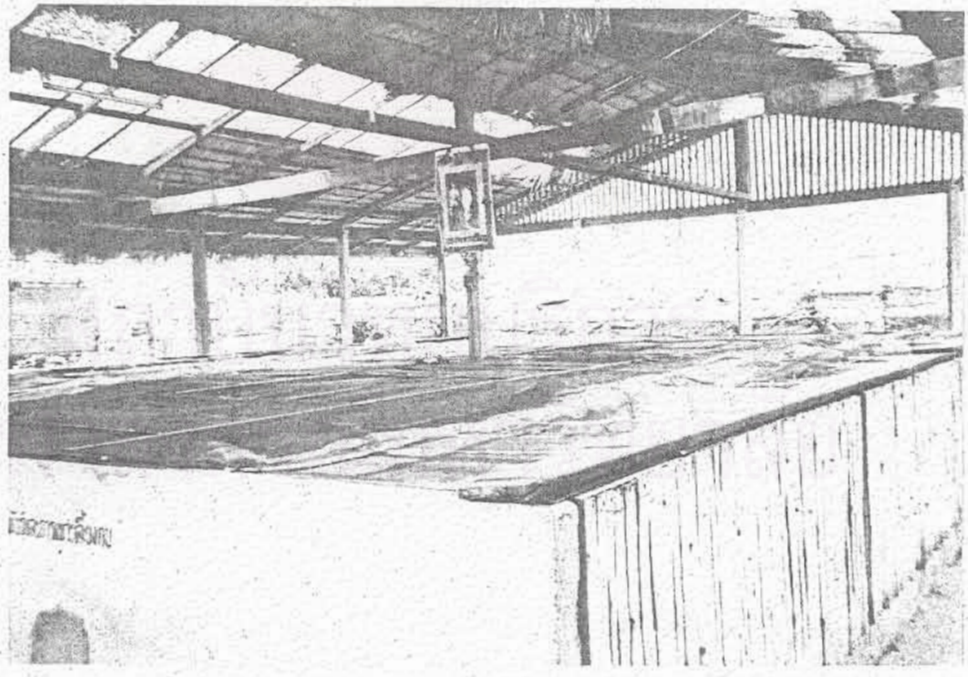
13. Taylor. A.C. and J.J. Kollros 1946. Stages in the normal Development of Rana pipien larvae. Anat. Rec. Vol. 44: 70-123.

ภาพประกอบ

โครงการเพาะเลี้ยงกบบูลฟร็อก



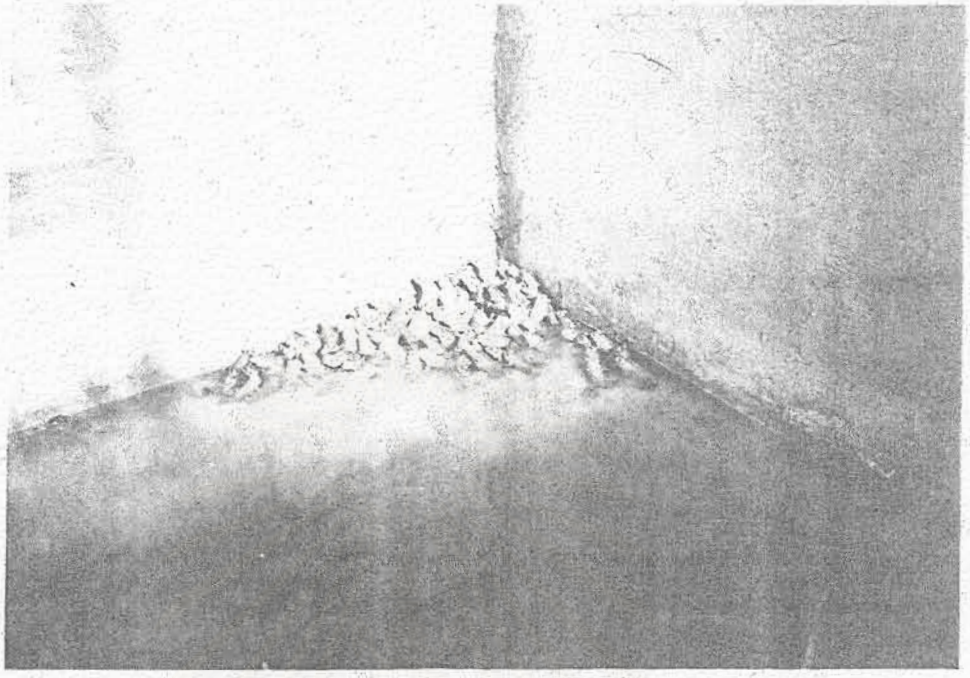
รูปที่ 1. โครงการเพาะเลี้ยงกบบุลฟร็อก
อ.เชียงดาว จ.เชียงใหม่



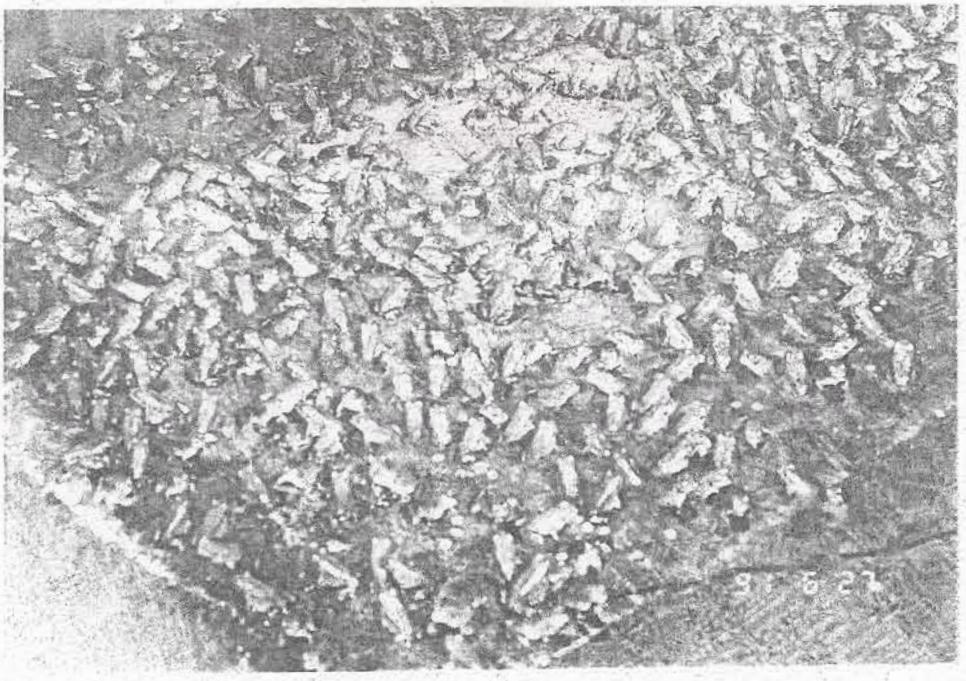
รูปที่ 2. โครงการเพาะเลี้ยงกบบุลฟร็อก
อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี

รูปที่ 3. บ่อเลี้ยงแบบถาวร

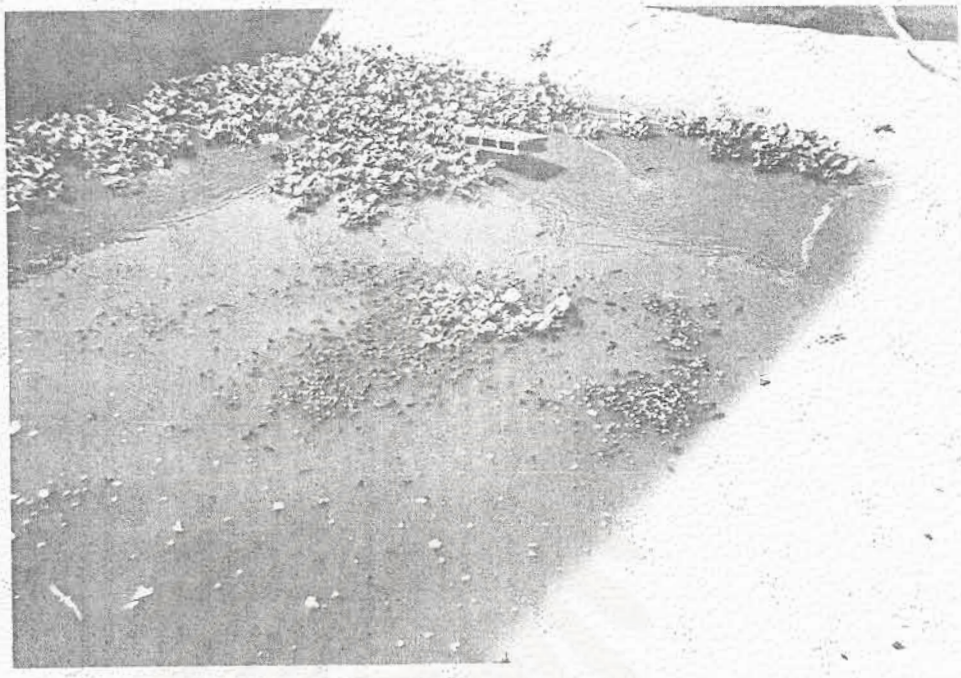
รูปที่ 4. บ่อเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์



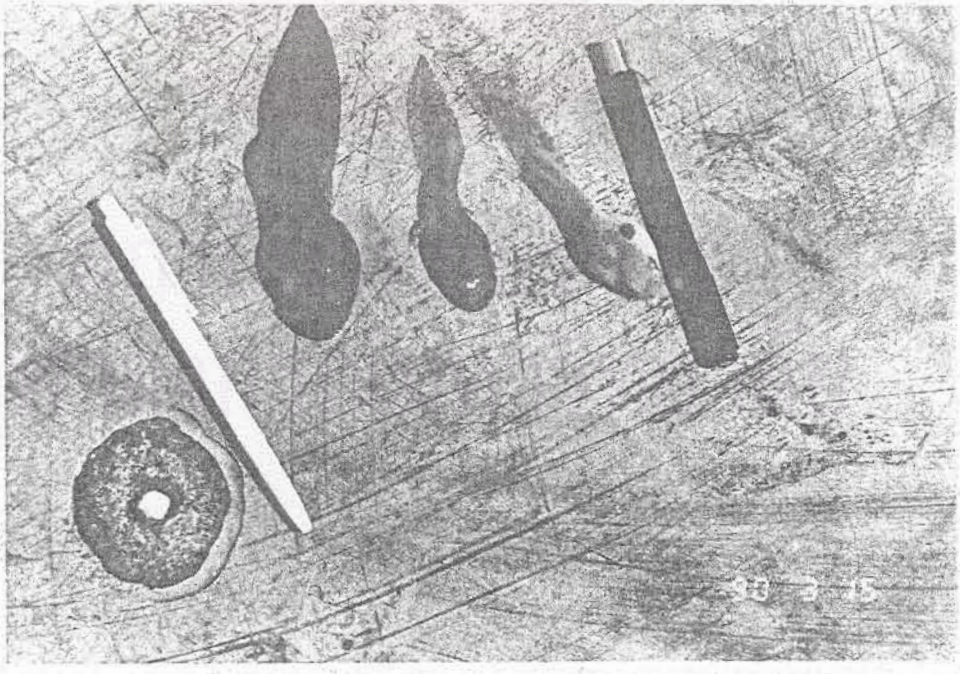
รูปที่ 5. บ่อเลี้ยงกบรุ่น



รูปที่ 6. บ่อเลี้ยงกบเล็ก

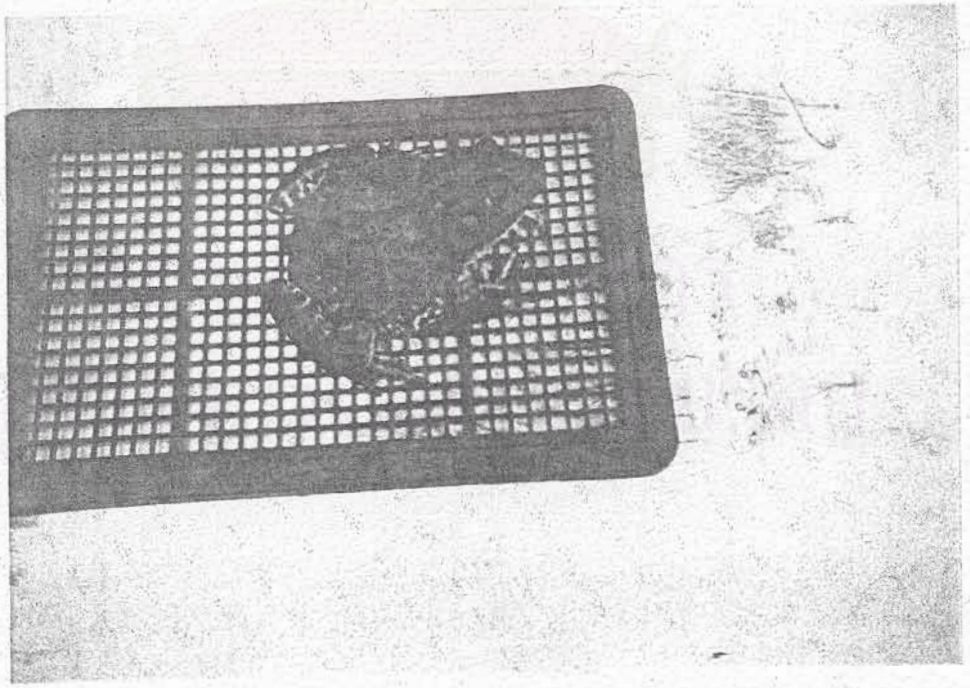


รูปที่ 7. บ่อเลี้ยงลูกอ๊อด



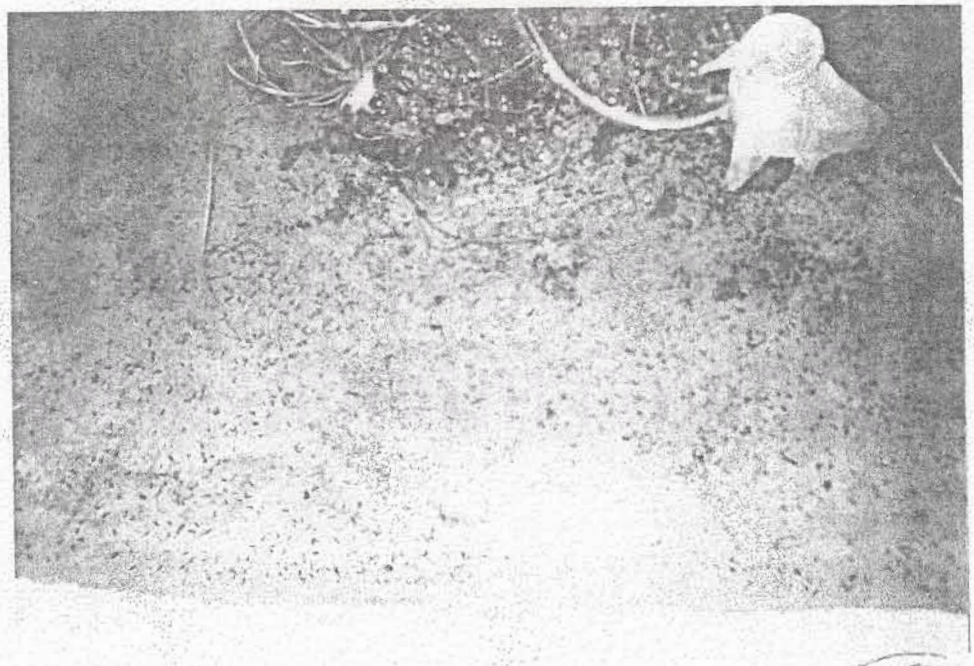
รูปที่ 8. ลูกอ๊อดกบบูลฟร็อก

รูปที่ 9. กบพันธุ์ (เพศผู้-ด้านท้อง)



รูปที่ 10. กบพันธุ์ (เพศผู้)

รูปที่ 11. บ่อขยายพันธุ์



รูปที่ 12. ตัวอ่อนเมื่ออายุได้ 3 วัน

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย